MINISTERE DE L'EDUCATION NATIONALE

**********

UNIVERSITE DE BAMAKO

**********

FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE ET D'ODONTOSTOMATOLOGIE

**********

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2001-2002

REPUBLIQUE DU MALI
Un peuple - Un but - Une foi

**********

N°.....

# ETUDE de la PHYTOCHIMIE et de L'ACTIVITE ANTIPALUDIQUE de *Alchornea cordifolia* Schmach. ( EUPHORBIACEAE )

**THESE**

Présentée et soutenue publiquement le …… devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie ( FMPOS )


PAR

**Mlle TOGOLA Adiaratou**


Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

**( Diplôme D'Etat )**

**JURY**

PRESIDENT: Pr OUSMANE DOUMBIA
MEMBRE : Dr ABABACAR MAIGA
CO-DIRECTEUR: Dr DRISSA DIALLO
DIRECTEUR : Dr ELIMANE MARIKO

# Je dédie ce travail :

**- A ALLAH** le tout puissant, le clément, le miséricorde DIEU, pour m'avoir donné la chance la volonté et le courage nécessaire pour mener ce travail à bout; je souhaite qu'il me montre d'autres jours meilleurs.

**- A mon père**, pour m'avoir soutenu moralement et matériellement jusqu'à ce jour. Père, ce travail est le tien , il est le fruit de tes efforts. Je prie le tout puissant qu'il t'accorde longue vie pour que tu puisses voir la concrétisation de tes espoirs.

**- A ma mère**, voici l'aboutissement de tes nombreuses nuits de prières, de ta sagesse et de ta générosité; mère de tous les enfants du monde si tes bonnes œuvres ont été jeté au fond de l'océan, si les poissons ne te le reconnaissent pas, le tout Puissant te le reconnaîtra; chère mère, ce travail est le tien.

**- A mes sœurs DJELIKA et FATOUMA TOGOLA**, vous m'avez balayé le chemin de la vie et éclairé mon chemin; aujourd'hui encore bien que distantes les unes des autres, le sentiment fraternel encore plus fort continue à m'éclairer, merci de la main fraternelle.

**- A mes frères Seydou Ousmane et Yacouba TOGOLA**, le chemin est dur et encore long, il faudrait du courage, beaucoup de courage et de la chance. Que Dieu vous garde et vous montre le droit chemin.

**- A mes parents Mr et Mme Bazan TOGOLA**, il existe encore des parents qui puissent aimer d'autres enfants que les siens, ce sentiment fort me lie à vous, merci du soutien moral durant toutes ces longues années.

**- A mes frères et sœur Moussa Souleymane et Fanta TOGOLA**, merci du fond du cœur du soutien fraternel plus que moral que vous m'avez accordé.

**- A ma sœur et amie Rokia Togola,** tu es la seule qui puisse me comprendre me conseiller et me soutenir dans une complicité qui est la notre, Dieu fasse que notre amitié soit éternelle dans ce bas monde et au delà.

**- A mon oncle et tente Mr et Mme Mallé** sans vous ce travail n'allait atteindre sa fin, merci pour ce soutien.

Innocents, voici une œuvre.

# J’adresse mes Remerciements les plus sincères

- Au personnel du Département de Médecine Traditionnelle particulièrement:
A **Dr Drissa DIALLO** chef du département pour m’avoir accepté dans le laboratoire et m’avoir suivit avec attention durant tout le temps qu’à duré ce travail.
A **Dr Maïga et Dr Sanogo** pour l’ attention qu’ils ont porté sur la réalisation de ce travail
**A Fagnan Sanogo, Famolo Diarra et Mme Tapa Fané** techniciens au sein du laboratoire pour la bonne atmosphère de travail qu’ils m´ont accordé.

- Au Directeur du Programme National de Lutte contre le Paludisme **Dr Massambou SACKO**

- Au Directeur du laboratoire national de santé **Pr Ousmane DOUMBIA**

- Au Département d´Epidémiologie et des Affections Parasitaires DEAP particulièrement au **Pr Ogobara DOUMBO** et à **Mme KAMISSOKO Fanta TRAORE**

Pour leurs apports dans la documentation de ce travail.

- A mes camarades : **Tolo, Igor, Fané, Sidibé, Makan, Richard, Itiann, Hamsatou, Ramata** pour la bonne entente et leur soutien constant au cours de la réalisation de ce travail.

- A mes camarades et amies: **Bintou, Tenin et Mariam** pour 5 ans de dur labeur, le chemin fût long mais pas interminable, bonne chance à vous.

**- A tous mes camarades de la première promotion de la Faculté de Pharmacie,**

**- A tous ceux, que je n´ai pas nommé, et qui de prêt ou de loin ont contribué à l´élaboration de ce travail,**

Que tous en soient vivement remerciés.

# MENTION SPECIALE

- A l'université d'Oslo (Norvège) pour son soutien matériel et financier à travers le projet CNRST-NUFU plantes médicinales.

- A l'institut des maladies tropicales de Bâles en Suisse pour leur collaboration dans réalisation du test antipaludique de nos extraits.

DIRECTEUR : Dr ELIMANE MARIKO

# A NOS MAITRES ETJUGES

## A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY

**Professeur Ousmane DOUMBIA**, Maître de conférence agrégé en Pharmacie chimique, chargé de l'enseignement de la chimie thérapeutique à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'OdontoStomatologie, Directeur du laboratoire national de la santé.
C'est un grand honneur pour nous de vous avoir comme président du jury, nous vous prions de croire en notre profonde gratitude et notre reconnaissance

## A NOTRE MAITRE ET JUGE

Dr Aboubacar Maïga, Maître assistant en Toxicologie, chargé de l'enseignement de la toxicologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'OdontoStomatologie.
Nous sommes honorés de vous compter parmi nos juges, veuillez bien trouver ici, le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.

## A NOTRE MAITRE ET CODIRECTEUR DE THESE

**Dr Drissa DIALLO**, Maître assistant en Pharmacognosie, chargé de l'enseignement de la Pharmacognosie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'OdontoStomatologie, chef du Département de Médecine traditionnelle de l'INRSP.

Vous avez dirigé avec toute la rigueur scientifique la réalisation de ce travail, votre amour pour le travail bien fait, vos qualités humaines connues de tous font de vous un modèle à suivre, nous n'oublierons jamais les sacrifices que vous avez consenti pour la réalisation de ce travail.
Soyez assuré cher maître, de notre profonde gratitude, de nos sincères remerciements et de notre estime pour toujours.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

**Dr Elimane MARIKO**, Maître de conférence en Pharmacologie, chef de D. E. R. des sciences pharmaceutiques et chargé de l'enseignement de la Pharmacologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'OdontoStomatologie, Directeur adjoint des services sanitaires de l'armée.

Nous sommes honorés de vous avoir pour directeur de thèse, cette faveur que vous avez bien voulu nous accorder nous a permi de mieux apprécier vos qualités humaines et professionnelles, veuillez trouver ici l'expression de notre grande reconnaissance.

# SOMMAIRE

**INTRODUCTION**…… 1

**MOTIVATION**…..…….. 2

**OBJECTIFS**……..…… 3

**TRAVAUX ANTERIEURS**

**CHAPITRE 1 : RAPPELS SUR LE PALUDISME**

1. Définition…… 3
2. Répartition Géographique.…..…… 3
3. Agent Pathogène ……...……. 3
4. Cycle évolutif ……...……. 3
5. Manifestations Cliniques ….…… 5
6. Diagnostic Biologique ….…..…… 5

**CHAPITRE 2 : QUININE ET DERIVES**

1. Historique…… 7
2. Composés……...…… …… 7

2. 1. Quinines ……..…….. 7

2. 2.Quinimax ……...…….. 10

2. 3. Quinidine ……...……. 10

2. 4. Les Amimo 8 quinoleïnes ……..…… 10

2. 5. Les Amino 9 acridines ……..……. 11

2. 6. Les Amino 4 quinoleïnes ……..…… 11

**CHAPITRE 3: L'ARTEMISININE ET SES DERIVES**

1. Historique ……..……. 14
2. Composés …….……. 14

2. 1. Artémisinine …….…… 14

2. 2. Artéméther …….……. 14

2. 3. Artésunate ... …….. 15

3. Propriétés pharmacologiques …… 16

4. Mécanisme d'action …… 16

5. Pharmacocinetique …….. 16
6. Présentation …….. 16
7. Associations …… 17
8. Schéma thérapeutique du paludisme…… 17
9. Coût du traitement d'un accès palustre simple …… 18

**CHAPITRE 4 : RAPPELS SUR QUELQUES PLANTES MEDICINALES UTILISEES CONTRE LE PALUDISME AU MALI**

1. *Cochlospermun tinctorium*..…… 20
2. *Khaya senegalensis* ……..…… 22
3. *Naucléa latifolia*.…… 23
4. Mitragyna inermis.……. 25
5. Le Malarial ….…… 27

**CHAPITRE 5 : *Alchornea cordifolia* Schmach. ( Euphorbiaceae )**

1. Botanique …….…….…….. 31
2. Habitat ……. 32
3. Usages en médecine traditionnelle ...…… 32
4. Chimie ……...…… 32
5. Pharmacologie ……..…… 33

**TRAVAUX PERSONNELS**

**CHAPITRE 1 : METHODOLOGIE**

1. Etudes phytochimiques …...…….. 35
1. 1. Matériel végétal ……. 35
1. 2. Extractions ……...……. 35
1. 3. Etudes phytochimiques ……..…… 38
1. 4. Détermination de la teneur en eau……. 43
1. 5. Détermination de la teneur en cendres…….. 44
1. 6. Méthodes chromatographiques ……...…… 46
1. 7. Méthodes chimiques ……. 49
2. Tests pharmacologiques...……...…….. 50
2.1. Activité antioxydante ……...……...……... 50

2. 2. Activité antiplasmodiale ……. 51

**CHAPITRE 2 : RESULTATS**

1. Etudes phytochimiques ……..…….... 53

1. 1. Extractions……..……. 53

1. 2. Etudes phytochimiques …… 54

1. 3. Teneur en eau et cendres…….……. 55

1.4. Méthodes chromatographiques.…… 55

1. 5. Hydrolyse acide ……. 67

2. Tests pharmacologiques...…….. 68

2.1. Activité antioxydante ……..… 68

2. 2. Activité antiplasmodiale …… 70

**COMMENTAIRES ET DISCUSSION**……. 71

**CONCLUSION** ……..……. 74

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**ANNEXES**

**RESUME**

## INTRODUCTION

Le paludisme reste l'une des maladies parasitaires les plus fréquentes et les plus graves au monde. Selon l'OMS 240 millions de sujets sont atteints et plus de 2 millions en meurent chaque année dans le monde.

C'est une affection d'autant plus actuelle qu'elle représente en zone tropicale et subtropicale la maladie parasitaire la plus sévère avec près de 2 milliards de personnes exposées annuellement ( Bryskier, 1988 ).

Au Mali, le paludisme constitue la première cause de consultation et d'hospitalisation dans les centres de protection maternelle et infantile et dans les services de pédiatrie
( Bouvier *et coll.* 1997 ).

La mortalité et la morbidité liées au paludisme sont respectivement 14 et 15 % chez les sujets à risque constitués par les enfants de moins de dix ans et les femmes enceintes
( Doumbo *et coll.* 1992 ).

La chloroquine recommandée comme médicament de première intention dans le traitement de l'accès palustre simple présente depuis quelques années des cas de résistances de *Plasmodium falciparum* ( Doumbo *et coll.,* 1992 ). En effet des problèmes d'ordre thérapeutique se posent aujourd'hui notamment avec l'apparition des souches de *Plasmodium* résistantes aux antipaludiques de synthèse.

Les plantes médicinales constituent l´une des voies d'investigation alternative intéressante à l'image de la découverte de la quinine, de l'artémisinine et de leurs dérivés issus de plantes utilisées en médecine traditionnelle. Peu de cas de résistance sont observés avec les molécules naturelles contrairement aux médicaments antipaludiques de synthèse.

Au Mali ainsi que dans les autres pays en voie de développement, la pauvreté accentue les difficultés d'accès aux soins de santé primaires; cette problématique en plus des comportements socioculturels et l'échec des thérapeutiques antipaludiques font que pour beaucoup de populations le premier recours en matière de traitement du paludisme est l'utilisation des plantes médicinales.

Parmi ces plantes figure celle qui fait l´objet de notre étude : *Alchornea cordifolia* qui est utilisée au Mali ainsi que dans la sous régions, seule ou en association avec d´autres plantes comme antipaludique, antidiarrhéique, antifongique, antibactérien, cicatrisant des plaies et bien d´autres utilisations.

## MOTIVATIONS

Notre travail s'inscrit dans une perspective de valorisation et de développement de la recherche sur les plantes médicinales afin de pouvoir améliorer l'état de santé des populations; ceci reste une volonté des autorités sanitaires de nos pays, l'OMS depuis 1978 s'est aussi engager à oeuvrer dans ce domaine.

Il a été motivé par:

- la volonté de promouvoir les plantes médicinales
- la nécessité de développer et de faciliter l'accès aux médicaments traditionnels améliorés à moindre coût compte tenu du coût élevé des médicaments conventionnels
- l'intérêt que suscite l'étude des molécules naturelles a activité antipaludique à l'image de la découverte de la quinine et de l'artémisinine
- le constat que peu de résistance sont observées avec les molécules naturelles par rapport aux molécules de synthèse.

## OBJECTIFS

### - Objectif général :

Etudier la composition chimique et l'activité antipaludique de *Alchornea cordifolia*.

### - Objectifs spécifiques

- Identifier les groupes chimiques présents dans les feuilles de *Alchornea cordifolia.*

- Déterminer la composition en monosaccharides des polysaccharides des extraits aqueux de *Alchornea cordifolia.*

- Déterminer les activités antiplasmodiales des extraits aqueux, dichlorométhanique éthanolique, méthanolique et de l'extrait avec l'éther de pétrole des feuilles de *Alchornea cordifolia.*

# CHAPITRE 1

## RAPPEL SUR LE PALUDISME

### 1. DEFINITION

Le paludisme ou malaria est une affection parasitaire due à l'action pathogène d'un protozoaire hématozoaire du genre *Plasmodium.*

La transmission à l'homme se fait par la piqûre d'un moustique: l'anophèle femelle.

**2. REPARTITION GÉOGRAPHIQUE** (BRYSKIER, 1988 ; MOUCHET, 1991)

Actuellement le paludisme sévit de façon endémique dans plusieurs pays; il est présent notamment sur le continent Africain, en Amérique du sud et centrale, en Asie et en Océanie, on le retrouve également dans les îles de Saint Dominique et en Turquie.

**3. AGENT PATHOGÈNE** (Bryskier, 1988)

Il s'agit d'un protozoaire qui a été découvert en 1880 à Constantine et présenté à l'académie des sciences en 1881 par LAVERAN, sous le nom de *Oscillaria malaria*. Il appartient au genre *Plasmodium* dont 4 espèces sont à l'origine d'infection chez l'homme:

- *Plasmodium falciparum,* agent de la fièvre tierce maligne; c'est l'espèce prédominante en Afrique noire.
- *Plasmodium vivax* surtout retrouvé en Amérique latine et en Asie, il est l'agent de la fièvre tierce bénigne.
- *Plasmodium malariae* agent de la fièvre quarte.
- *Plasmodium ovale* également agent de la fièvre tierce bénigne.

Les espèces *falciparum* et *vivax* sont les plus répandues.

**4. CYCLE ÉVOLUTIF DES PLASMODIES** (Gentilini, 1986; Bryskier, 1988)

Ce cycle comprend 2 parties:

- Une phase de multiplication asexuée (ou phase schisogonique) qui a lieu chez l'homme.
- Une phase de reproduction sexuée (ou phase sporogonique) qui a lieu chez l'anophèle.

### 4. 1 CHEZ L'HOMME :

L'évolution se fait en 2 étapes:

- une première étape pré-érythrocytaire ou tissulaire,
- une deuxième étape érythrocytaire ou sanguine.

### 4. 1. 1. LA PHASE PRE-ERYTHROCYTAIRE

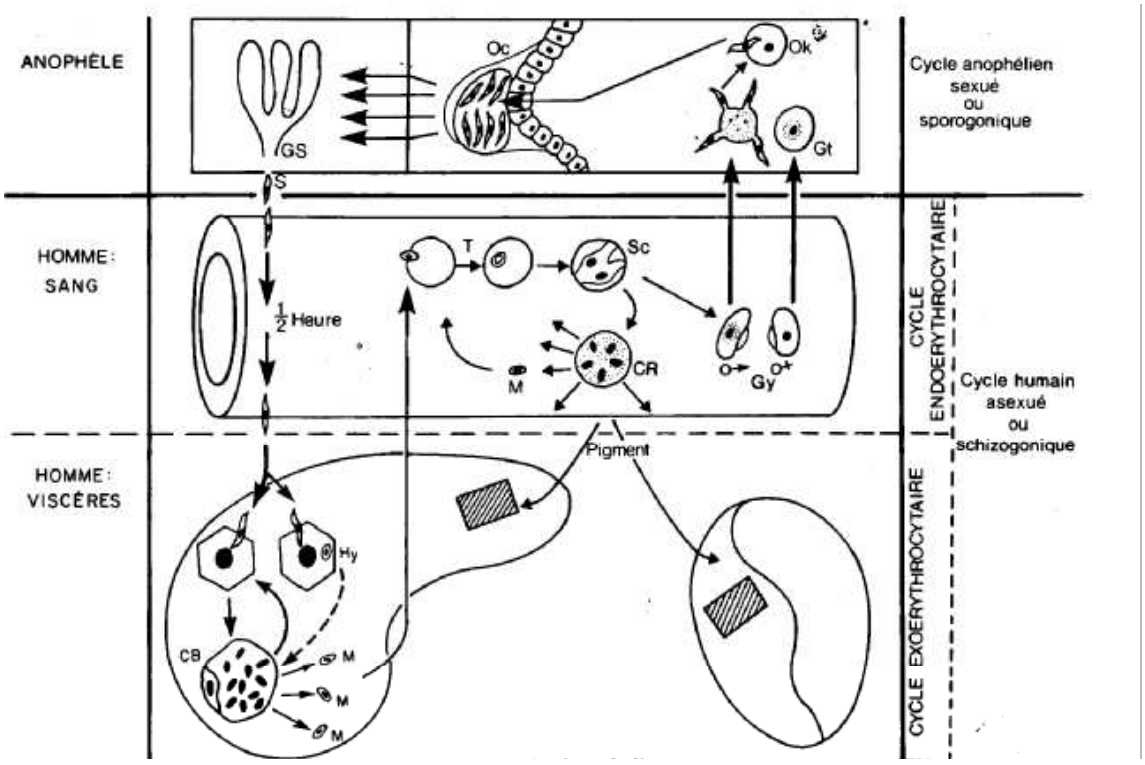
Lors d'un repas sanguin l'anophèle femelle injecte à l'homme des éléments fusiformes appelés sporozoïtes. Ces éléments envahissent les hépatocytes où ils se transforment en trophozoïtes; ces derniers vont ensuite se multiplier pour former des schizontes hépatocytaires qui à maturité vont éclater et libérer des milliers de mérozoïtes dans la circulation générale. La durée de ce cycle cliniquement latent, varie selon les espèces. Pour l'homme elle va de 6 à 10 jours.

### 4. 1. 2. LA PHASE ERYTHROCYTAIRE

Les mérozoïtes de provenance hépatique pénètrent dans les hématies et s'y transforment en trophozoites, qui se divisent en schizontes sanguins puis en rosaces. A maturité les rosaces font éclater la cellule pour libérer les mérozoïtes qui vont amorcer une nouvelle schizogonie.
C'est l'éclatement quasi simultané des corps en rosace qui provoque l'accès de fièvre. Cette phase dure 48 heures pour l'espèce *falciparum.*
Après plusieurs cycles schizogoniques, certains trophozoïtes vont se différencier à l'intérieur des hématies et donner des formes sexuées; les seules aptes à contaminer l'anophèle.

### 4. 2. CHEZ L'ANOPHELE FEMELLE

L'anophelle absorbe les gamétocytes mâles et femelles lors de son repas sanguin; ceux-ci se transforment en gamètes, ils donnent après fécondation un ookinète puis un oocyste.
L'oocyste à maturité libère les sporozoïtes qui vont gagner les glandes salivaires de l'anophèle femelle qui devient ainsi infestante et pourra lors de son prochain repas sanguin inoculer les sporozoïtes à l'homme.
Le cycle chez l'anophèle dure entre 10 et 40 jours selon l'espèce plasmodiale.




S : sporozoïte.
Hy : hypnozoïte.
H : hépatocyte.
CB : corps bleu.
M : mérozoïte.

T : trophozoïte.
Sc : schizonte.
CR : corps en rosace.
Gy : gamétocyte.

Gt : gamète.
Ok : ookinète.
Oc : oocyste.
GS : glandes salivaires.

**Figure N° 1:** Cycle évolutif des plasmodies (Gentilini et Duflo, 1986)

**5. MANIFESTATIONS CLINIQUES** (Danis, 1986; Gentilini, 1986)

Les manifestations cliniques du paludisme sont diverses dans leurs expressions et leur gravités :

**5. 1. LES ACCÈS SIMPLES**

Ils sont communs à toutes les espèces plasmodiales avec cependant quelques différences liées au parasite; ces accès comprennent: la primo-invasion et les accès intermittents.

- **La primo-invasion** : cliniquement caractérisée par la fièvre, un malaise général, des céphalées, des douleurs abdominales. Correctement traitée elle guérit vite.

- **Les accès intermittents ou accès palustres à fièvre périodique**: caractérisés par des frissons, la chaleur, les sueurs; ces signes sont souvent précédés de céphalées et de nausées.

L'évolution de l'accès est rapidement favorable sous traitement.

### 5. 2. LE PALUDISME VISCÉRAL ÉVOLUTIF

Le tableau clinique associe: une anémie, une asthénie, une anorexie, une hyperthermie. Chez l'adulte on peut noter un amaigrissement rapide.

### 5. 3. L'ACCÈS PERNICIEUX OU NEURO-PALUDISME

Syndrome de début brutal ou progressif, il se manifeste par: une fièvre qui dépasse 41° dans certains cas, des troubles neurologiques avec notamment un coma, des convulsions. Ce tableau peut évoluer spontanément vers la mort.

### 5. 4. LA FIÈVRE BILIEUSE HEMOGLOBINURIQUE

Elle atteint surtout les sujets neufs; ses principaux signes sont: l'ictère, la fièvre, les lombalgies et une chute tensionnelle.

Elle est déclenchée par une infection récurrente ou par une prise de quinine.

### 6. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE (Gentilini et Duflo, 1986)

La mise en évidence de l'hématozoaire dans le sang est seule capable d'apporter une certitude dans le diagnostic. La recherche se fait sur une goutte épaisse et un frottis colorés au MAY-GRÜNWAL GIEMSA (MGG).

# CHAPITRE 2

## QUININE ET DERIVES

**1. HISTORIQUE** : ( Hostettman, 1986)

L'histoire rapporte que des mineurs indiens du Pérou consommaient une infusion chaude d'écorce de quinquina pour supprimer leurs tremblements lorsqu'ils étaient exposés au froid et à l'humidité; c'est en observant ceci qu'au début du 17ème siècle les missionnaires jésuites eurent l'idée d'utiliser la poudre d'écorce de cette plante pour traiter les fièvres. Par analogie de symptômes, l'infusion d'écorce de quinquina a été utilisée pour traiter les états de tremblement associés aux crises de la malaria; les effets furent spectaculaires. Rapidement la « poudre des jésuites » fut connue dans toute l'Europe; la spécificité de son action sur le paludisme conduisait à sa reconnaissance officielle alors même que l'identité de l'espèce productrice demeurait inconnue.

En 1742 C. LINNE créa le genre *Cinchona* en hommage à la princesse de CINCHON qui avait été guérie par la poudre de l'écorce de la plante.

Au 18ème siècle, l'usage de l'écorce de quinquina se généralisa dans le monde entier.

En 1820 deux chimistes français, PIERRE et JOSEPH isolèrent la quinine, principal alcaloïde de l'écorce de quinquina. La quinine était la substance la plus active contre les symptômes de la malaria.

En 1945 WOODWARD et DOERING réalisèrent la synthèse totale de la quinine.

**2. COMPOSES**

**2. 1. LA QUININE** ( O.M.S., 1984)

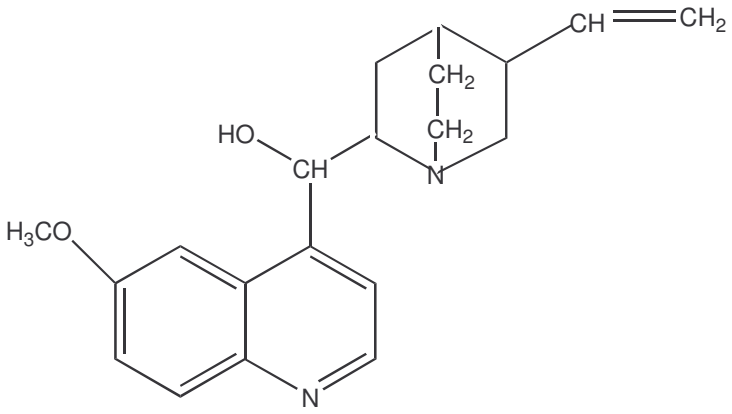
L'écorce de quinquina contient un mélange d'une dizaine d'alcaloïdes désigné sous le nom de «quinoïdine». *Quinquina officinalis*, une des espèces de *Quinquina* contient au minimum 6,5 % d'alcaloïdes parmi lesquels, 4 sont importants: la quinine (30 à 60% dans l'espèce *officinalis*), la quinidine, la cinchonine, la cinchonidine; les 2 premiers sont les plus actifs contre les parasites du paludisme humain.

**2. 1. 1. STRUCTURE DE LA QUININE** ( O.M.S. , 1984)

- Formule brute : **$C_{20}$ $H_{24}$ $N_2$ $O_2$**

-Nom chimique: Vinyl-1 quinuclidyl-2 méthoxy-6 quinolyl-4 carbinol.

-Formule développée :




**Quinine**

Toute modification de la structure chimique de la quinine modifie l'action pharmacologique du composé.

**2. 1. 2. OBTENTION**

Autrefois extrait de l'écorce de quinquina (*Quinquina ledgeriana* espèce cultivée pour la production), la quinine est aujourd'hui obtenue par synthèse.

**2. 1. 3. PROPRIÉTÉS PHARMACOLOGIQUES** (OMS, 1984)

La quinine, antipaludique naturel exerce une action schizonticide sanguine rapide sur les différentes espèces plasmodiales et par conséquent un médicament propre à assurer la guérison clinique. Son administration prolongée permet souvent la guérison radicale du paludisme à *falciparum*, mais rarement de l'infection à *vivax.*

La quinine a également une certaine efficacité contre les gamétocytes immatures de *Plasmodium falciparum.*

**2. 1. 4. MÉCANISME D'ACTION** ( OMS, 1984 )

Le mécanisme d'action pourrait être expliqué par l'effet base faible due au noyau oxyquinoleïque et par la présence d'un transporteur facilitant le passage de la molécule vers la vacuole digestive.

**2. 1. 5. PHARMACOCINÉTIQUE** (WHO, 2000)

Par voie orale la quinine après absorption passe dans l'estomac sans subir de modification, elle est absorbée au niveau de l'intestin supérieur et passe dans la circulation sanguine à l'état de base. La concentration plasmatique atteint son sommet entre 1 à 3 heures. Par voie intraveineuse (i v) ou intramusculaire (i m) la liaison aux protéines est de 70%; la distribution se fait entre les liquides du corps les plus riches en protéines, elle traverse la barrière placentaire et se base dans le liquide cérébrospinale; le volume de distribution est plus élevé chez le sujet saint, faible chez les enfants que chez les adultes.

La quinine est intensément métabolisée dans le foie sa demi-vie d'élimination est de10 à 12 heures chez une personne malade; elle est excrétée dans l'urine principalement en métabolites hydroxylés.

**2. 1. 6. PRESENTATION POSOLOGIE** ( TRAORE, 1999; WHO, 2000)

**L a quinine se présente sous forme**:

- Comprimés: QUINIMAX ,[R] QUINIMAX LAFRAN [R]
- Ampoules injectables : QUINIMAX, [R] QUINOFORME, [R] PALUJET [R]

**La posologie**

La quinine peut être administrée par voie orale dans un cas de paludisme non compliqué selon l'un des schémas suivants:

- Régions où les parasites sont sensibles à la quinine: la posologie est de 8mg /kg /j 3 fois par jour de quinine base pendant 7 jours.
- Régions où les parasites sont sensibles à la combinaison sulfamide quinine la posologie est de 8mg /kg 3 fois par jour de quinine base plus la sulfadoxine donnée le premier jour de traitement de la quinine.
- Régions marquées par une sensibilité décroissante du *Plasmodium* à la quinine, la posologie est de 8mg / kg 3fois par jour de quinine base pendant 7 jours plus un sel de doxycycline 100mg par jour pendant 7 jours ( mais pas chez les enfants de moins de 8 ans et les femmes enceintes) ou de la tétracycline 250 mg 4 fois par jour avec la même contre indication ou même de la clindamycine 300mg 4 fois par jour.

Si le traitement par voie orale n'est pas possible, la première dose de quinine peut être administrée par voie intraveineuse sous forme de perfusion dans un liquide isotonique à 5% de dextrose saline pendant 4 heures. Si le traitement par iv n'est pas possible, la

quinine peut être administrée par voie intramusculaire; dans ce cas le médicament doit être dilué à la concentration de 60mg/ ml.

**2. 1. 7. EFFETS SECONDAIRES** ( WHO, 2000 )

La quinine peut entraîner des effets plus ou moins gênants: vertiges, troubles de la vision démangeaisons, éruption généralisée, hypoglycémie, diminution des plaquettes.

**2. 2. LE QUINIMAX** ( WHO, 2000 )

Le quinimax est une association de 4 alcaloïdes de *Cinchona*: la quinine, la quinidine, la cinchonine, la cinchonidine.

Des études limitées démontrent qu'il n'existe pas une différence significative entre l'efficacité thérapeutique du quinimax et celle de la quinine, et que ces deux composés ont des comportements similaires à l'intérieur de l'organisme.

**2. 3. LA QUINIDINE** (WHO, 2000 )

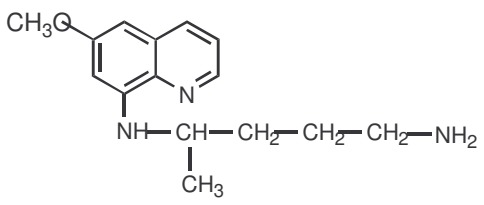
La quinidine est un diasteréoisomère de la quinine avec des propriétés antimalariques similaires; elle n'est pas recommandée pour le traitement de routine du paludisme simple, mais plutôt pour celui du paludisme compliqué et par voie parentérale. Ses doses sont apparentées à celles de la quinine.

**2. 4. LES AMINO-8-QUINOLEINES** ( OMS, 1984)

Synthétisés vers les années 1920 par Schulemann et ses collaborateurs, ces molécules dont le chef de groupe est la PRIMAQUINE (ensuite la Rhodoquine Pentaquine, Pamaquine, et le Quinocide) ont marqué une étape dans la recherche des antipaludiques.

**2. 4. 1. STRUCTURE**

Nom chimique: (Amino-4 méthyl-1 butylamino) 8 méthoxy-6 quinoleïne




**La** Primaquine

**2. 4. 2. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES**

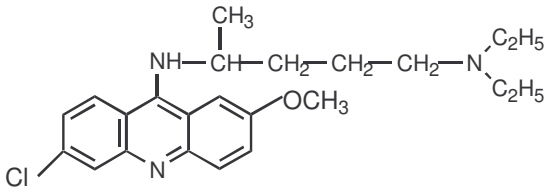
La Primaquine était très active contre les gamétocytes de toutes les espèces de *Plasmodium* et contre les formes exoérythrocytaires latentes.

La découverte en la primaquine: d'un médicament capable d'assurer une prophylaxie causale, de détruire les gamétocytes de même que les formes sanguines, de guérir radicalement une infection déclarée et d'être fabriquée à un prix relativement bas et sans difficulté a fait naître l'espoir que l'on avait trouvé l'antipaludique idéal. Cependant le fait que leur action n'est efficace qu'à des doses dangereusement élevées, interdit d'employer les amino-8-quinoleïnes pour le traitement des atteintes aiguës.

Aujourd'hui les Amino 8 quinoleïnes constituent une classe largement substituée par d'autres plus récentes et plus efficaces.

**2. 5. LES AMINO-9-ACRIDINES** ( OMS, 1984 )

Une autre classe d'antipaludique : les amino 9 acridines dont la molécule de référence est la MEPACRINE fut découverte en 1932 par Kikuth et ses collaborateurs.




La Mépacrine

Nom chimique: Chloro-3 (diéthyl amino-4 méthyl-1 butylamino)-9 méthoxy-7 acridine

La découverte des inconvénients suivants:

- la coloration de la peau et des conjonctives en jaune
- les troubles mentaux observés
- la résistance des souches de *Plasmodium*

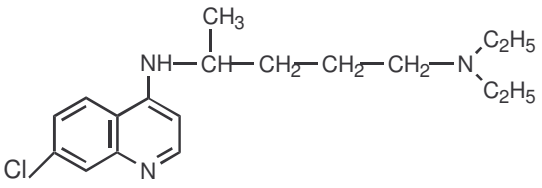
ont fait que si cette classe a été d'une utilité incontestable pendant les années 40 époque où l'on ne disposait pas de la quinine; elle est aujourd'hui complètement remplacée par d'autres composés.

**2. 6. LES AMINO-4-QUINOLEÏNES** ( OMS, 1984 )

La présence du noyau quinoleïne dans la structure de la quinine et de la chaîne alcoyle de la mépacrine ainsi que les propriétés thérapeutiques connues des amino 8 quinoleïnes, ont été à la base de nouvelles études sur les antipaludiques. La CHLOROQUINE (Résorchin) se révéla la plus efficace et la moins toxique d'un groupe de médicaments : les **amino 4 quinoléïnes**.

### 2. 6. 1. STRUCTURE

Nom chimique: Chloro-7 (diéthylamino-4 méthyl-1' butylamino)-4 quinoleïne




CHLOROQUINE

Tous les médicaments cliniquement utiles de cette série ont le substituant chlore en position 7 ce qui semble être en rapport avec leur action spécifique contre le *Plasmodium.*

### 2. 6. 2. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES

La chloroquine et autres amino 4 quinoleïnes sont très actives contre les formes sanguines asexuées des 4 espèces de *Plasmodium*, sauf dans les régions où existent des souches pharmacorésistantes.

### 2. 6. 3. MECANISME D'ACTION ( TRAORE, 1999 )

La chloroquine se concentre dans le parasite grâce à l'existence d'un gradient de pH et de transporteurs membranaires spécifiques. Elle se concentre dans la vacuole du parasite et inhibe sa croissance en agissant au niveau de la dégradation de l'hémoglobine par ce dernier.

**2. 6. 4. PHARMACOCINETIQUE** ( OMS, 1984)

Les amino 4 quinoleïnes sont rapidement et presque totalement absorbés par la muqueuse gastro-intestinale. Ils se concentrent dans les organes riches en mélanine, dans les lysozymes et les cellules du parenchyme hépatique.

La concentration plasmatique efficace est de l'ordre de 30 µg de base par litre de sang, atteinte entre 2 à 3 heures après administration par voie orale et en 15 mn par voie intramusculaire.

Le médicament est excrété pour 10 % environ dans les selles et pour 56 % dans l´urine.

**2. 6. 5. - EFFETS SECONDAIRES, TOXICITE**

Aux doses thérapeutiques les effets secondaires sont minimes; on a signalé des céphalées et du prurit, qui disparaissent après l'arrêt du traitement.

La toxicité des amino 4 quinoleïnes a été observée à la suite de l'administration de fortes doses; le dommage oculaire peut prendre la forme d'une neurorétinite; probablement lié à l'affinité de ces composés pour les tissus contenant la mélanine.

# CHAPITRE 3

## L'ARTEMISININE ET SES DERIVES

**1. HISTORIQUE** ( Meshnick, 1991; Rhone, 1993 )

La prise en charge thérapeutique du paludisme se heurte actuellement au problème de la résistance du *Plasmodium* vis à vis des antipaludiques; une nouvelle classe chimique d'antimalariques d'origine végétale a été découverte grâce à l'isolement par des chimistes chinois en 1970, de l'**ARTEMISININE** appelé « QUINGHAOSU ».

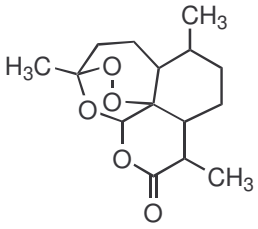
Ses propriétés antimalariques ont été décrites pour la première fois en 341 après Jesus-Christ en Chine; *Artemisia annua* ,la seule espèce productrice d'artémisinine est connue depuis des siècles pour ses vertus antipyrétiques.

**2. COMPOSES**

**2. 1. L'ARTEMISININE**

**2. 1. 1. FORMULE CHIMIQUE ET NOMENCLATURE** (Meshnick, 1991)

- Dénomination commune internationale (D C I ): Artémisinine
- Nom commun: Quinghaosu
- Formule brute: $\mathbf{C_{15}H_{22}O_5}$
- Formule développé:



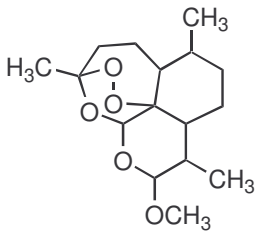

**2. 1. 2. OBTENTION**

L'extraction à partir des feuilles et des fleurs de *Artemisia annua* L. présente le meilleur rendement.

**2. 2. L'ARTEMETHER**

**2. 2. 1. FORMULE CHIMIQUE ET NOMENCLATURE**

- Dénomination commune internationale : Artémether
- Formule brute: **$C_{16}H_{26}O_5$**
- Formule développé:
- Nom chimique: 3 6 9-triméthyl, 10-méthoxy, 3 12- époxydécahydro, 12-pyrano 1 2-benzodioxépine



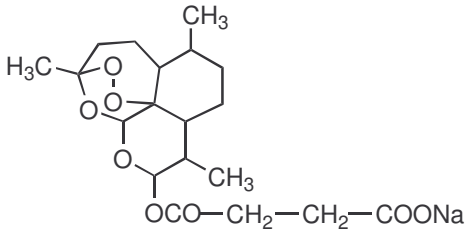

**2. 2. 2. OBTENTION**

L'artémether est un dérivé sémi synthétique préparé à partir de l'artémisinine en deux étapes d'abord une réduction de l'oxygène fixé sur le carbone en position 12 ensuite une estérification du groupement OH formé. La réaction abouti à la formation de deux isomères α et β.

**2. 3. L'ARTESUNATE**

**2. 3. 1. FORMULE CHIMIQUE ET NOMENCLATURE** (Plat, 1995)

- Dénomination chimique internationale: Artésunate
- Formule moléculaire : **$C_{19}H_{28}O_8$**
- Nom chimique: dihydro artémisinine 10α hémisuccinate



**2. 3. 2. OBTENTION**

La synthèse de l'artésunate se fait à partir de l'artémisinine. La réduction du groupement lactone entraîne l'obtention de la dihydroartémisinine avec un rendement de 88 à 90 %. En présence de pyridine de chloroforme et d'anhydride succinique, on obtient l'hémisuccinate de dihydroartémisinine.

**3. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES DES COMPOSES** (Torok,1992)

L'artémisinine et ses dérivés sont de puissants schizonticides, notamment avec les souches de *Plasmodium falciparum* chimiorésistances.

**4. MECANISME D'ACTION** (Browing, 1989; Bougnoux, 1993 )

Des études réalisées en microscopie électronique montrent que la cible principale de l'artémisinine et de ses dérivés est la structure membranaire du *Plasmodium.*

Au point de vue biochimique, leur mécanisme d'action *in vitro* semble être l'inhibition de la synthèse protéique.

**5. PHARMACOCINETIQUE** (Hien, 1992; Plat, 1995; Boulos, 1994)

L'artémisinine et ses dérivés sont rapidement hydrolysés *in vitro* en dihydroartémisinine; ce métabolite actif s'élimine plus lentement que la molécule mère.

Dix minutes après l'administration par voie orale la concentration en artésunate est plus élevée dans l'intestin que dans les tissus; des concentrations élevées sont retrouvées dans le cerveau, le foie et les reins; par contre, une heure après l'injection d'artésunate les concentrations ont fortement diminué dans la majorité des tissus, à l'exception du cerveau et des graisses; ceci serait dû au caractère lipophile de la dihydroartémisine, le métabolite principal de l'artésunate.

La fixation aux protéines plasmatiques est de 76%, le pic est atteint au bout de 6 heures environ; la demi-vie d'élimination est de 4 heures, avec une concentration efficace qui se maintient pendant 50 heures.

Le métabolisme est hépatique et faiblement rénale; l'élimination se fait dans l'urine et les selles.

**6. PRESENTATIONS**

Les présentations les plus souvent disponibles sont les suivantes :

- **Par voie orale**:

Artémisinine comprimés ----------250 mg

Artémisinine capsules ----------250 mg

Artéméther capsules---- ----------40 mg

Artésunate comprimés ----------50 mg

Dihydroartémisinine comprimés ----------60 mg

- **Par voie I M**

Artéméther, solution huileuse 80 mg / ampoule de 1 ml

Artésunate à 60 mg par ampoule de 1 ml

- **Par voie I V**

La formulation d'artésunate utilisée est identique à celle destinée à l'administration intramusculaire.

- **Par voie rectale**

Artémisinine suppositoire de 100 mg.

**7 . ASSOCIATIONS**

La différence d'activité entre les antipaludiques permet des associations stratégiques. Elles peuvent avoir un effet additif ou plus souvent synergique en agissant de façon séquentielle à différents stades du cycle parasitaire. Ces associations ont l'avantage d'augmenter l'efficacité des médicaments ou de retarder l'apparition de la résistance à l'un ou aux deux médicaments.

**Exemples d'associations:** SAVARINE, association entre chloroquine et proguanil utilisé dans le traitement préventif, COARTEM, association entre l'artémether et luméfantrine est utilisé dans le traitement curatif.

**8. SCHÉMAS THERAPEUTHIQUES DU PALUDISME PAR LA QUININE L'ARTEMISININE ET LEURS DERIVES**

Chaque cas de paludisme est un cas particulier, en zone d'endémie, les différents schémas thérapeutiques tiennent compte des facteurs cliniques et épidémiologiques.

- **Traitement de l'accès simple** (Touze *et coll*.,1998)

La chloroquine ( Nivaquine $^{R}$, Aralen $^{R}$, Résorchin $^{R}$ ) existe sous forme comprimé dosés à 100 et 300 mg le schéma est de 500 mg /j pendant 5 jours.

La quinine comprimé: la posologie est de 25 mg /kg/j administré à des intervalles de 8 heures et ceci pendant 7 à 10 jours. La quinine injectable n'est recommandée qu'en cas d'intolérance digestive des formes orales.

- **Traitement de l'accès pernicieux** ( Grachot *et coll*., 1998 )

La quinine par voie I V à la posologie de 25 mg / kg / j pendant 6 jours.

Les dérivés du Qinghaosu, recommandés pour traiter les souches résistantes à la quinine:

L'artémisinine (Cotexin $^{R}$ ) est utilisé à la dose de 3,2mg /kg/j en i m le premier jour et 1,6 mg /kg/j du 2$^{ème}$ au 7$^{ème}$ jour.

L´artémether (Paluther $^{R}$ ): sa posologie est de 160 mg le premier jour suivis de 80 mg /j pendant 4 jours.

L'artésunate (Arsumax $^{R}$) est utilisé chez l'adulte par voie orale à la dose de 40 mg /j pendant 5 à 7 jours; une solution injectable existe mais sa préparation doit être extemporanée à cause de son instabilité.

# 9. COÛT DU TRAITEMENT D´UN ACCES PALUSTRE SIMPLE SELON LE SHEMA DECRIT DESSUS

**Tableau N° 1 :** Coût du traitement

| Médicaments | Quantité suffisante | Prix unitaire F | Coût du traitement F |
|---|---|---|---|
| Chloroquine (Nivaquine 100 mg ) | 25 comprimés | 12,5 | 312,5 |
| Quinine comprimés 300 mg | 35 comprimés | 40 | 1400 |
| Quinine injectable Paluject 600mg | 12 ampoules | 420 | 5040 |
| Artémisinine ( Cotexin $^{R}$ ) | 1 boîte | 4155 | 4155 |
| Artémether ( Paluther $^{R}$ 80 mg ) | 1 boîte | 13240 | 13240 |
| Artésunate ( Arsumax $^{R}$ ) | 1 boîte | 4310 | 4310 |
| Sulfadoxine | 1 boîte | 1260 | 1260 |
| Malarial | 1 paquet | 600 | 600 |

CHAPITRE 4

# RAPPEL SUR QUELQUES PLANTES MEDICINALES UTILISEES CONTRE LE PALUDISME AU MALI

Au Mali, beaucoup de plantes sont utilisées contre le paludisme en général; certaines ayant une activité antiplasmodiale réelle sont utilisées tout autant que d'autres, agissant sur les symptômes du paludisme. Dans nos milieux traditionnels toutes ces plantes sont dites antipaludiques.

**Tableau N° 2**: Quelques plantes utilisées contre le paludisme au Mali (TRAORE, 1999; Doumbia, 1994 )

| Familles | Noms latins | Noms bambara | Parties utilisées |
|---|---|---|---|
| Aizoaceae | *Glinus oppositifolius* L. | Balassa | Partie aérienne |
| Asteraceae | *Vernonia colorata* Will. | Kô safunè | Feuilles |
| Caesalpiniaceae | *Cassia sieberiana* D. C. | Sindjan | Ecorce racine |
| Cochlospermaceae | *Cochlospermum tinctorium* A. | N´tiribara | Feuilles |
| Combretaceae | *Anogeissus leiocarpus* D. C. | N´galama | Feuilles |
| | *Combretum glutinosum* Perrex | Tchangara blé | Feuilles |
| | *Guiera senegalensis* J. F. | N´kundjè | Feuilles |
| Euphorbiaceae | *Alchornea cordifolia* Schumach | Dunféké | Feuilles |
| | *Chrosophora senegalensis* Lam. | Dabada | Feuilles |
| Hypericaceae | *Psorospermum guineense* Hochr. | Karidjakouma | Feuilles |
| Meliaceae | *Khaya senegalensis* Desr. | Djala | Ecorce tronc |
| | *Trichilia roka* Forst. | Soulafinzan | Ecorce tronc |
| | *Acacia senegal* L. Willd | Donkari | Ecorce tronc |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Mimosaceae | *Entada africana* Guill. Perr. | Samanèrè | Ecorce tronc |
| | *Parkia biglobosa* Jacq. | Nèrè | Ecorce tronc |
| Moraceae | *Ficus thonnigii* Blume | Doubalé | Feuilles |
| Poaceae | *Oxytenanthera abyssinica* Munro | Bô | Feuilles |
| Rubiaceae | *Gardenia ternifolia* Schum. | Bouré tchè | Feuilles |
| | *Mitragyna inermis* Willd. | Djun | Feuilles |
| | *Nauclea latifolia* Sm. | Baro | Ecorce tronc |
| Rutaceae | *Fagara zanthoxyloïdes* Lam. | Wô | Feuilles |
| Verbenaceae | *Lippia chevalieri* Moldenke | N´ganiba | Feuilles |

Parmi les plantes citées dans ce tableau quelques unes possèdent une activité antipaludique confirmée, ce sont :

**1. *Cochlospermum tinctorium*** ( A. RICH.)

**Nom local bambara** : **n'tiribara**

**1. 1. CARACTERES BOTANIQUES** (Doumbia, 1994)

Cette plante communément appelée « le teinturier africain » a un rejet atteignant 30 à 60 cm de hauteur. Les feuilles mesurent jusqu'à 8 cm de largeur et ont des lobes effilés et dentés. Les pétioles atteignent 5 cm de long et sont grêles. Les fleurs couleur jaune or assez grandes apparaissent au ras du sol dès les premières pluies; elles ont de nombreuses étamines. Les fruits, capsulaires ovoïdes contiennent des graines noires entourées de longs poils.

Espèce soudano-sahélienne, cette plante est retrouvée depuis le Sénégal jusqu'en Ouganda.

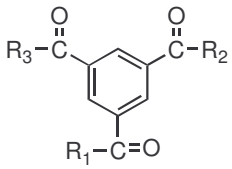
**1. 2. USAGES EN MEDECINE TRADITIONNELLE** (Doumbia, 1994)

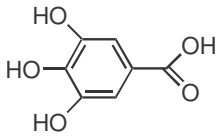
Le décocté de racines est prescrit pour le traitement des accès fébriles, de la diarrhée, des dysménorrhées, et des affections uro-génitales. L'infusé de feuilles et de racines est utilisée contre le paludisme en bain et le décocté de racines en boisson.

Les racines en association avec celles de *Terminalia macroptera* sont utilisées en décoction pour le traitement de la jaunisse.

**1. 3. COMPOSITION CHIMIQUE** (Diallo *et coll*.,1988; Diallo *et coll*.,1991 )

Les constituants chimiques d'extrait aqueux des racines de la plante ont été établis. Les composés retrouvés sont: les acides gallique et ellagique, des flavonoïdes ( 7 ,3'diméthyl dihydroquercétine; 5, 4' diméthyl quercetine ), des appocaroténoïdes ( cochloxanthine, dihydrocochloxanthine ) des acetogénines (cochlospermine, cochlospermatine , cochlospermatinine-type ).




Cochlospermine type 1: $R_1=R_2=R_3=C_{11}H_{23}$ Acide gallique

type 2: $R_1=C_{13}H_{27}$ $R_2=R_3=C11H_{23}$

type 3: $R_1=R_2=C_{13}H_{27}$ $R_3= C_{11}H_{23}$

type 4: $R_1=R_2=R_3= C_{13}H_{27}$

type 5: $R_1=R_2=C_{13}H_{27}$ $R_3=C_{15}H_{31}$

**1. 4. PHARMACOLOGIE** (Diallo *et coll.*1991 ; Diallo *et coll.* 1992 ; Benoit *et coll.,*1995 )

*Cochlospermum tinctorium* possède une activité anticancéreuse sur les tumeurs de la peau attribuée aux triterpènes présents dans la plante.

La Cochloxantine et la dihydrocochloxantine ont des propriétés antifongiques et antibactériennes; ils inhibent la croissance de *Candida albicans*, de *Aspregillus* et de *Echerichia coli*.

L'activité hépatoprotectrice des extraits aqueux, hydroéthanolique et éthanolique a été testée; l'activité observée est probablement liée aux composés phénoliques les carroténoïdes et les triterpènes.

L'activité antipaludique de l'extrait aqueux de racines a été testée *in vitro* sur deux souches de *Plasmodium falciparum* : une souche chloroquino-résistante FC $B_1$ de Colombie et une souche chloroquino-sensible $FC_{32}$ de Tanzanie. La concentration

inhibitrice a été déterminée par deux méthodes : la microméthode isotopique et la méthode visuelle; la C $I_{50}$ était de l´ordre de 1 à 2 µg / ml.

**2. *Khaya senegalensis*** Desr.

**Nom local bambara: djala**

**2. 1. CARACTERES BOTANIQUES** ( Kerharo et Adams, 1974 )

Grand arbre de 25 à 30 m, à fût généralement court et trapu pouvant dépasser 2 m de diamètre. L'écorce est grisâtre foncée, écailleuse; les feuilles sont glabres, principalement paripennées, groupées vers l'extrémité des branches, avec 3 à 7 paires de folioles opposées où subopposées.

La distribution est du Sénégal en Ouganda, et à l'Est du Soudan actuel.

**2. 2. USAGES EN MEDECINE TRADITIONNELLE** (Newinger, 1996)

*Khaya senegalensis* joue un rôle important en Afrique Occidentale dans la médecine humaine et vétérinaire. Il est excessivement utilisé comme tonifiant, contre la fièvre et le paludisme.Un adage sénégalais dit : « l'écorce de caïlcédrat est amère mais elle guérit» elle est dite « Quinquinona du Sénégal ».

Au Soudan actuel les tradipraticiens traitent la malaria avec l'extrait de l'écorce de tronc; en Gambie la fièvre est traitée avec le macéré d'écorce de tronc; au Togo la décoction de l'écorce du caïcédrat et du fruit de *Xylopia eathiopica* est utilisée en boisson contre les coliques et l'anémie; au Mali la décoction d'écorce de tige est utilisée en bain pour traiter l'hémorroïde.

**2. 3. CHIMIE**

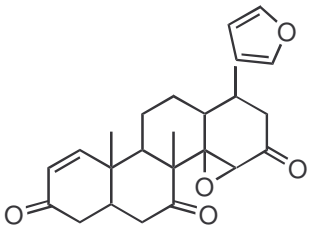
La plante est caractérisée par un grand nombre de triterpénoïdes appelés méliacines ou limocines. A part ces substances d'autres constituants ont été isolés: stérols, coumarines, flavonoïdes et des acides gras.

Paris (1939) a confirmé la présence de caïcédrine et démontrait que l'écorce de *Khaya* est riche en tanins et saponines.

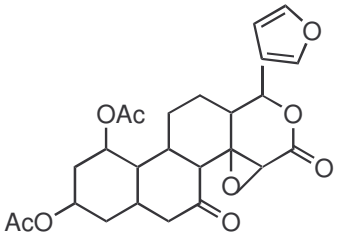
Dans les feuilles Mesbal *et al* (1984) isolèrent des triterpènes α et β amyriques, des flavonoïdes, la quercetine et la quercetinrhamnoglucoside appelée rutine.

Le β sistostérol et des acides gras ont été isolés dans les feuilles collectées en Egypte. Dans le bois ont été isolés des triterpénoides: la khayasine 7 diacétoxy 7 oxokhivorin.

L'écorce de tronc contient habituellement du méthyl angolensate.



7 Cétogedunine




Kayasine

**2. 4. PHARMACOLOGIE**

Moyse Mignon (1942) démontrait qu'à 5 ml / kg le macéré d'écorce n'a pas de toxicité sur les souris par voie IV et démontrait l'absence d'activité hémolytique.

Khalid *et coll.* (1986) démontraient que la gédunine était active sur *Plasmodium falciparum* avec une concentration inhibitrice C I $_{50}$ = 0,8 µg / ml.

Le même auteur démontrait que la quercétine avait une activité relativement élevée sur *Plasmodium falciparum* avec une concentration inhibitrice C I $_{50}$ = 6,9µg / ml.

Le Grand (1989 ) démontrait que l´extrait de l´écorce de racine était actif contre *Mycobacterium laprae* et que l'écorce de tronc possédait une activité contre *Mycobacterium phleï* et *Candida albicans.*

Les coumarines ont des propriétés antipyrétique, analgésique, sédative et anticonvulsivante. Ils sont probablement responsables de l'effet anticonvulsivante de l'écorce de tige, (Gupta *et coll.*1980 )

**3. *Nauclea latifolia* Sm**

**Nom local bambara : baro**

**3. 1. CARACTERES BOTANIQUES** (Kerharo et Adams, 1974; Neuwinger, 1996)

Arbuste sarmenteux pouvant atteindre 9 m de haut, avec un tronc de 30 cm de diamètre; les branches sont flexibles, lianescentes, entremêlées, dressées puis retombantes. L'écorce est fibreuse. Les feuilles grandes et elliptiques atteignent sur les rejets plus de 20 cm de long sur 15 cm de large. Le fruit est une baie charnue de 3 à 5 cm de diamètre.

La plante est largement répandue sur les sols humides en Afrique de l'ouest .

### 3. 2. USAGE EN MEDECINE TRADITIONELLE

Les feuilles: le décocté est utilisé contre la jaunisse en Côte d'Ivoire, contre la diarrhée et la dysenterie au Liberia, et comme vermifuge en Gambie, ( Kerharo et Adams, 1974; Adjanohoun *et coll.*1985 ).

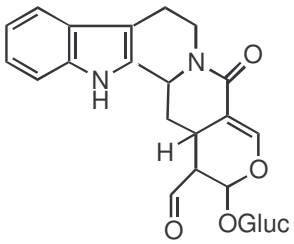
Les écorces de tronc: le décocté est utilisé contre les affections fébriles au Mali, les maladies de la peau en Centrafrique; le macéré est utilisé pour traiter l'inflammation au Nigeria (Akubé *et coll.* 1982).

Les racines: le macéré est utilisé pour traiter le paludisme au Mali et la jaunisse au Togo ( Perera *et coll.* 1991), il est utilisé comme vermifuge au Sénégal; la poudre de racine traite les plaies.

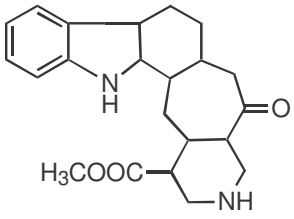
### 3. 3. CHIMIE (Hottellier, 1975; Hottellier, 1979 )

Les principaux constituants sont des alcaloïdes, retrouvés dans différents organes de la plante; parmi ces alcaloïdes figurent 3 glucoalcaloïdes: la cadambine, la

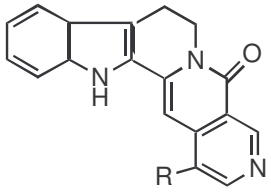
3 α dihydrocadambine, la strictosamide, tous présents dans les feuilles en plus de l´angustoline, la naucléfine, la décarbométhoxynaucléchine, la nauclétine, la naufoline, le nauclédinal et l´épi 19 nauclédinal .



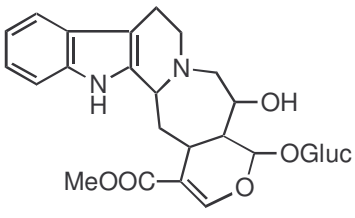

Cadambine

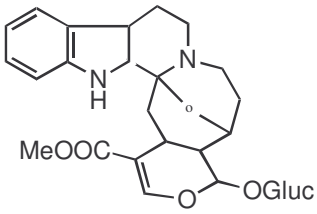


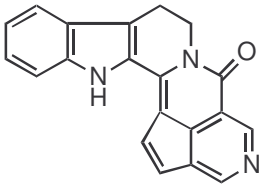

Naucléfoline




Angustine R= $CH=CH_2$
Angustoline R= HC(OH)Me
Naucléfine R= H
Nauclétine R= COMe



3α dihydrocadambine Strictosamide Naulafine

**3. 4. PHARMACOLOGIE**

Au Nigéria Udon *et coll.* (1995) ont mis en évidence des propriétés hypotensives de l'extrait méthanolique des feuilles.

Asuzu *et coll.*(1996) ont mis en évidence l'activité antihelminthique du décocté sur les souches infestantes de *Trichostrongylus.*

Les activités antiplasmodiales du décocté des écorces de tronc et des racines ont été évaluées sur *Plasmodium falciparum,* les $CI_{50}$ étaient comprises entre 1 à 4 µg / ml pour les écorces de tronc et 0,9 à 3,8 µg / ml pour les écorces de racines (Bennoit *et coll.*1998 )

Au Togo, Gbeassor *et coll.*(1981 ) ont mis en évidence l´activité inhibitrice du décocté des racines sur la maturation des trophozoïtes de *Plasmodium falciparum* en schizontes au bout de 24 heures. La $CI_{50}$ était de 22 µg / ml.

Traoré (1999) a démontré que les alcaloïdes totaux ont une activité sur *Plasmodium falciparum in vitro* avec une $CI_{50}$ = 5 µg / ml, mais ces alcaloïdes sont cytotoxiques à la même concentration.

**4. *Mitragyna inermis* Will.**

**Nom local bambara: djun**

**4. 1. CARACTERES BOTANIQUES** (Kerharo et Adams, 1974).

Arbre de 8 à 10 m de haut avec de nombreuses tiges dressées qui partent de la base. Les feuilles elliptiques atteignent 7 cm de long sur 4 cm de large; les fleurs sont petites et blanchâtres; les fruits sont de petites capsules à double coques entourées de bractées; les nombreuses graines sont petites, ovales et plates .

La plante pousse spontanément dans les savanes marécageuses et les galeries forestières; elle est exclusivement africaine.

**4. 2. USAGES EN MEDECINE TRADITIONNELLE** (Kerharo et Adams, 1974).

Au Mali le décocté de feuilles est utilisé pour ses propriétés fébrifuge et stimulante dans les maladies infectieuses, il est utilisé contre l'ictère, la syphilis, les arthrites.

En Guinée le décocté d'écorce de tronc est utilisé comme diurétique et fébrifuge.

Au Sénégal les écorces sont utilisées contre les maux de ventre, la dysenterie, la bilharziose. La poudre d'écorce est utilisée comme cicatrisant des grandes plaies

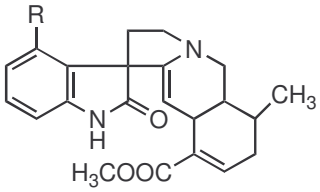
Les racines; très amères sont utilisées en décocté contre la paludisme.

**4. 3. CHIMIE**

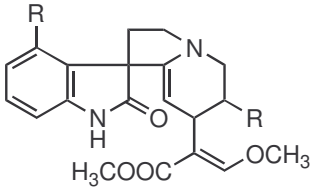
La plante contient de nombreux alcaloïdes qui appartiennent à 2 types de structures: indoliques et oxindoliques; ce sont la mitranermine la ptéropodine l´uncarine F.

Ces molécules ont été isolées dans les feuilles et l´écorce de tronc ( Hamet,1933; Bishay, 1988 ).

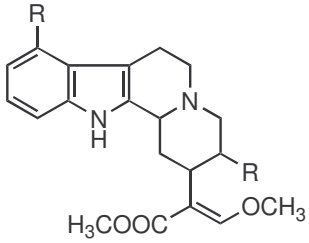
Des saponosides: l´acide quinovique 3 α D glucoside et l´acide 3 α L glucoside et des sapogénines: l´acide quinovique et l´acide oxoquinovique ont été isolés ( Bishay *et coll.,* 1988 ).



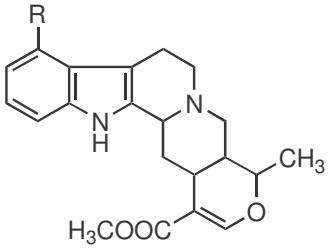

Alcaloïdes oxindoliques pentacycliques




Alcaloïdes oxindoliques tétracycliques




Alcaloïdes indoliques tétracycliques




Alcaloïdes indoliques pentacycliques

**4. 4. PHARMACOLOGIE**

Perrot (1939) et Millat (1945) ont mis en évidence l'activité fébrifuge et hypotensive de la rynchophiline.

En 1972 Macko a démontré que la mitragynine avait des propriétés antitussives.

Touré *et coll.* (1996) ont montré que les alcaloïdes isolés des feuilles et en particulier la speciophylline avait une activité cholérétique chez la souris.

Traoré ( 1999 ) a démontré que les alcaloïdes totaux de *Mytragina inermis* étaient responsables d´une activité sur *Plasmodium falciparum* avec une $CI_{50}$ allant de 4 à 6 µg / ml.

## 5. LE MALARIAL

Le malarial, médicament traditionnel amélioré, est une mixture de parties de 3 plantes:

- 62 % de feuilles de *Cassia occidentalis* L. ( Caesalpiniaceae )
- 32% de feuilles de *Lippia chevalieri* Moldenke (Verbenaceae)
- 6% de capitules de *Spilantes oleracea* Jacq (Asteraceae )

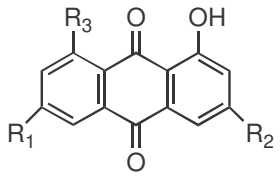
### 5. 1. *Cassia occidentalis* L.

**Nom local bambara : balambalan kasago**

Herbe (où sous arbrisseau ) dressée annuelle où vivace atteignant 1 m de haut environ; les feuilles sont composées; les fleurs sont jaunes; les gousses étroites contiennent 10 à 20 graines. Espèce originaire de l'Amérique du sud, douée d'un grand pouvoir d'expansion, est devenue de ce fait pantropicale. On la trouve partout au Mali, à l'exception des régions désertiques du nord ( Doumbia, 1994 ).

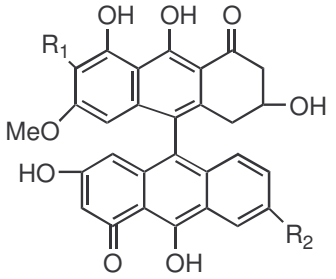
La drogue est constituée par les feuilles, elles contiennent:

- Des dérivés anthracéniques: le physcion, l'oxidentalol 1 et 2, le singuenol 1, germichrysone, méthyl germitorosone.
- Des anthraquinones: chrysophanol, émodine, questine.
- Des flavonoïdes: kampherol, apigenine, vitexine, 7-O- glucosyl vitexine (Anton, 1968)
- Des matières azotés: acides aminobutyriques ( Duquenois, 1968 ).
- Des huiles essentielles (Gaind,1966).




Physcion $R_1$=OMe $R_2$=Me $R_3$=OH

Chrysophanol $R_1$=H $R_2$=Me $R_3$=OH
Emodine $R_1$=OH R2=Me R3=OH
Questin R1=OH R2=Me R3=OMe




Singuenol $R_1$=$R_2$=Me
**Occidentalol** 1 $R_1$=Me $R_2$=H
**Occidentalol** 2 $R_1$=$R_2$=H

**5. 2. *Lippia chevalieri* MOLD.**

**Nom local bambanra : n'ganiba**

**Herbe aromatique ligneuse dressée ramifiée aux inflorescences. Les feuilles sont verticillées par 3 ou 4. Les fleurs sont petites et blanches.**

La drogue est constituée par les feuilles.

**5. 3. *Spilantes oleracea* Jacq**

**Nom local bambanra : farimani**

Plante annuelle rameuse, touffue étalée à la base (car s'enracinant au niveau des nœuds inférieurs) puis ascendante atteignant 50 cm de haut. Les tiges et les branches sont cylindriques; les feuilles opposées sont triangulaires, dentées où quelque fois entières.

La drogue est constituée par les capitules elles contiennent :

- Des amides: tel que le spilantol (Gerber, 1903)

- Des flavonoïdes tels que: quercétine 3 glucoside, quercetine 3 rhamnoglucoside apigénine 7 néonespéroside ( Very, 1983)

Des saponosides: les sucres : D glucose, L rhamnose, les genines: β amyrines (Kris, 1975 )

**5. 4. PHARMACOLOGIE**

L´activité antipaludique du malarial a été évaluée sur la prolifération de *Plasmodium falciparum* lignée FCC32 (chloroquinosensible ); les activités du décocté du malarial $CI_{50}$ = 0,6 mg / ml et de *Cassia* $CI_{50}$ = 0,66 mg / ml étaient similaires, les deux autres décoctés (*Lippia* et *Spilantes*) ont été plus actifs . *Spilantes* $CI_{50}$ = 0,18 mg / ml seul a été 3 fois plus actif que le malarial (Doumbia, 1994), *Lippia* avait une $CI_{50}$ = 0,3 mg / ml.

**5. 5. ESSAIS CLINIQUES**

Le malarial a fait l'objet d'un essai clinique avec les objectifs suivants :

- Comparer l'efficacité du malarial à celle de la chloroquine phosphate
- Vérifier l'existence ou non d'effets secondaires liés à la prise orale du malarial à la posologie préconisée par l'I N R S P.

Ce travail a été réalisé sur un échantillon de 53 patients d'âge comprise entre 5 – 45 ans Les sujets retenus présentaient une goutte épaisse et frottis positifs avec une parasitémie supérieure où égale à 5000 parasites / $mm^3$; une température supérieure ou égale à 38°. 36 Malades étaient traités au malarial et 17 à la chloroquine.

Les résultats obtenus ont montré qu'à partir du 5ème jour de traitement il y a une négativité de la parasitémie chez les patients sous chloroquine, contrairement au malarial où la baisse de la parasitémie est beaucoup moins prononcée.

Il résulte de l'étude que le malarial est moins efficace que la chloroquine même s'il semble avoir une discrète action schizonticide qui reste à confirmer (Doumbia , 1994 ).

**5. 6. PRESENTATION ET POSOLOGIE**

- **Présentation** : paquet de 11 sachets de 10 g chacun
- **Posologie** : adulte, 2 sachets / j pendant 4 jours et 1 sachet / j pendant 3 jours

  Enfant ,1/2 sachet 2 fois / j pendant 4 jours et ½ sachet / j pendant 3jours
- Mode d'emploi: décoction d'un sachet de 10 g d'une tranche de citron dans un ½ l d'eau pendant 10 mn; filtrer et boire le décocté tiède et sucré.

# CHAPITRE 5
# *Alchornea cordifolia* (SCHMACH THONN. ) MÜELL. ARG. **(EUPHORBIACEAE )**

**Synonymes** : *Alchornea cordata* Benth

*Schousboea cordifolia* Schum. Et Thonn

**Noms locaux bambara** : kô gira; kounaninkala; dunféké; konossasa; moridaba

## 1. BOTANIQUE

### 1. 1. POSITION DANS LA SYSTEMATIQUE ( Crete, 1965)

**Tableau N° 3**: La systématique de *Alchornea cordifolia.*

| | |
|---|---|
| Règne | EUCARYOTES |
| Embranchement | SPERMAPHYTES |
| Sous embranchement | ANGIOSPERMES |
| Série | THALAMIFLORES |
| Sous série | MERISTEMEMES |
| Classe | DICOTYLEDONES |
| Sous classe | DIALYPETALES |
| Ordre | EUPHORBIALES |
| Famille | EUPHORBIACEAE |
| Sous famille | CROTONOÏDES |
| Genre | *Alchornea* |
| Espèce | *cordifolia* |

### 1. 2. DESCRIPTION BOTANIQUE (Kerharo et Adams, 1974)

Arbre de 4 à 5 m de long souvent moins, parfois légèrement grimpant, à branches nombreuses partant d´une base, dressées évasées et un peu retombantes.

Les feuilles sont glabres, à pubescence étoilée, alternes largement ovales, élargies et cordées à la base, acuminées au sommet; à bords parfois entiers mais le plus souvent dentés. Elles atteignent 15 cm de long sur 10 à 12 cm de large avec un long pétiole de 7 à 8 cm de long; le limbe est trinervé avec 2 glandes visqueuses à la base sur la face inférieure.

Les fleurs femelles sont verdâtres, très petites et en grappes pendantes sur les branches où le tronc ; les fleurs mâles sont en panicule axillaire de 20 cm de long.

Les fruits sont capsulaires à deux loges subsphériques de 1 cm de diamètre, ils sont couverts de fins poils étoilés légèrement aplatis avec deux très longs styles persistants de 6 à 7 cm de long.

**2. HABITAT** ( Kerharo et Adams, 1974)

Il est très commun en Casamance sur les sols frais, les lisières, près des marais. Il existe dans les galeries soudaniennes, les vallées des affluents de la Gambie et dans la vallée du Sénégal, au Mali cette plante peut se trouver au près des marais au sud et au centre du pays.

**3. USAGES EN MEDECINE TRADITIONNELLE**

*Alchornea cordifolia* est largement utilisé en Afrique, seul ou en association avec d'autres plantes. Tous les organes sont utilisés essentiellement à l'état frais, où sec.

- Les feuilles: Le décocté est utilisé en Côte d'ivoire, au Burkina et en Centrafrique comme antidysentérique, contre les maux de ventre au Ghana et comme emménagogue ( Kerharo, 1950 ).

- L'écorce de tronc, selon le même auteur, est utilisée en association avec celle de *Symphonia lobuliffera*, comme apéritif.

Les racines seraient utilisées pour soigner la lèpre (Abbiw, 1990)

La poudre de feuilles appliquée localement produirait une rapide cicatrisation des plaies et ulcères (Kerharo, 1950).

- En Côte d'Ivoire et au Mali, *Alchornea cordifolia* est utilisé dans le traitement du paludisme (Mustofa *et coll*. 2000).

**4. CHIMIE**

Les substances les plus anciennement connues sont des alcaloïdes; molécules instables, leur taux varie en fonction de l'organe étudié et selon la durée de conservation de l'échantillon; ainsi l'écorce de tige contient entre 0,03 à 11 % d'alcaloïdes totaux; les racines environ 0,05 % et l'écorce de racines 0,20 % (Paris, 1958).

Deux molécules de yohimbine ont été mise en évidence par chromatographie sur papier. Leur identification n'a pas été réalisée.

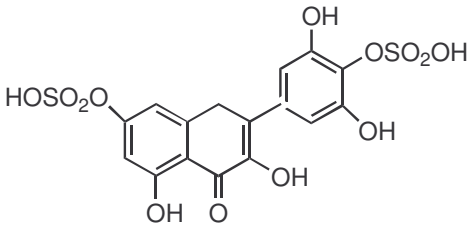
Bennet depuis 1950 avait mentionné la présence de tanins à un taux de 10 % dans les feuilles et 11 % dans les écorces de tiges.

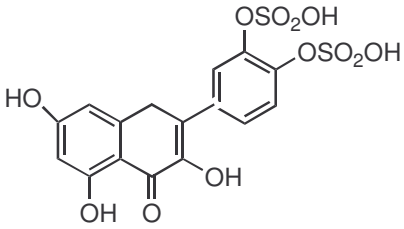
Les acides gentisique et anthranique ont été identifiés dans les écorces par Fereira en 1963. Les feuilles contiennent de la quercétine et du gallate d'éthyle (Pruja,1987).

L'indole, le stérol et les glycosides terpéniques ont été isolés dans les racines, dans la graine on a isolé l'acide alchornoïque, l'alchorneïne et l'alchonidine

( Ajali, 2000 ).

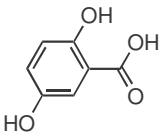
Deux composés nouveaux: la quercétine –3' 4' disulfaté et la quercétine 7- 4' disulfaté ont été isolés dans une autre espèce: *Alchornea laxiflora*, Ces composés sont des dérivés sulfatés de la quercétine isolés par les méthodes spectroscopiques (Ogundupe, 2001).



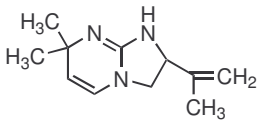




Quercetine 7- 4´disulfaté

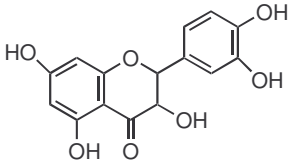
Quercetine 3´- 4´disulfaté



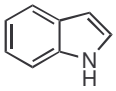

Acide Gentisique



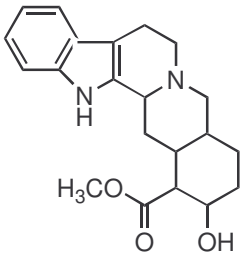

Alchorneïne




Quercétine




Indole




Yohimbine

**5. PHARMACOLOGIE**

Tona *et coll.*(1994) ont démontré que les feuilles de *Alchornea cordifolia* présentaient un pouvoir antimicrobien moyen vis à vis de *Echerichia coli*, *Citrobacta diversus* et une faible activité vis à vis de *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri* et *Staphilococcus aureus*.

Fouraste *et coll.* (1986) isolèrent à partir des feuilles une substance qui présente un pouvoir antidermatophyte.

Agb*e et coll.(* 1987) ont démontré l'activité trypanocidale d'extrait de la plante à des doses de 200 µg / ml contre *Trypanosoma congolense* et *Trypanosoma bruceï.*

Ebi, (2000) démontrait que les écorces de tiges de *Alchornea cordifolia* possédaient une activité antimicrobiale sur *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Echerichia coli et Klebsiella pneumoniae.*

Barry *et coll.* (2002) ont déterminé l´activité antifongique de *Alchornea cordifolia* sur *Microsporon canis* et *Trichophyton mentagrophytes.*

# CHAPITRE 1 : METHODOLOGIE

## 1. ETUDES PHYTOCHIMIQUES

### 1. 1. MATERIEL VEGETAL

L´étude a été réalisée sur les rameaux feuillés de *Alchornea cordifolia* récoltés à Kati le 8 Février 2002. Le nom local de la plante portant à confusion, les échantillons ont été identifiés par Mr N'golo Diarra botaniste. Un spécimen de l´échantillon a été déposé à l'herbier du Département de Médecine Traditionnelle (DMT).

Les rameaux feuillés ont été séchés à l´ombre sur une claie et pulvérisés en poudre fine à l´aide d´un moulin de type: Retsch SM 2000.

### 1. 2. EXTACTIONS

Nous avons réalisé: une décoction, une macération dans l´eau et dans l´éthanol, une extraction par épuisement successif avec solvants organiques (éther de pétrole, dichlorométhane, méthanol, éthanol à 80% ) suivie d´une digestion et d´une décoction.

#### 1. 2. 1. Décoction

✹ Matériel: un ballon, un bain marie, une fiole, un entonnoir, un filtre.

✹ Méthode: Sur une prise d´essai de 50 g de poudre pesée dans un ballon à décoction, nous avons ajouté 500 ml d´eau distillée, placé le ballon dans le bain marie réglé à 100°C, après 1 h le décocté est filtré concentré au rotavapor (marque BÜCHI 2000 ) et lyophilisé. L´extrait sec a été ensuite pesé pour calculer le rendement de l'extraction et conservé dans un flacon.

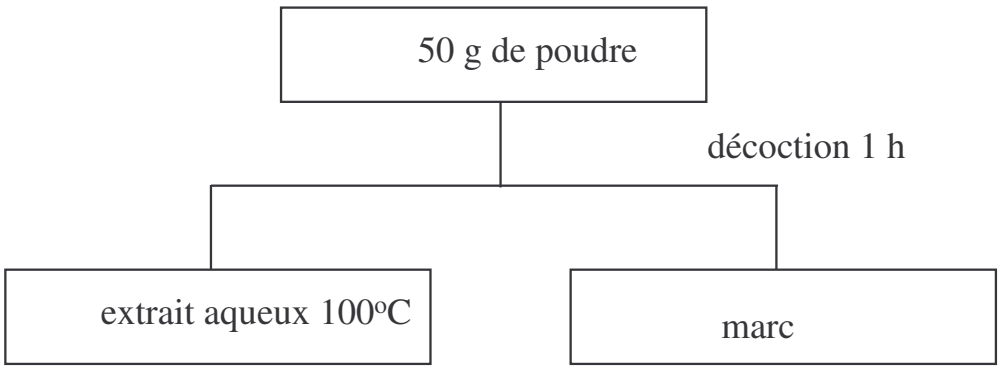


**Figure N° 3**: Schéma de la décoction dans l'eau

### 1. 2. 2. Macération dans l´eau et l´éthanol

✹ Matériel: un bécher, un agitateur magnétique, une baguette magnétique, un entonnoir, un filtre, une fiole.

✹ Méthode: Nous avons versé 500 ml d´éthanol à 80% sur 50 g de poudre contenue dans un bécher, ce mélange a été agité avec un agitateur magnétique pendant 24 h, ensuite filtré. Cette opération a été répétée 3 fois, les filtrats ont été concentrés et lyophilisés. L´extrait sec a été pesé, nous avons calculé le rendement de l´extraction et conservé l´extrait dans un flacon bien fermé.

Pour la macération dans l´eau nous avons utilisé le même processus avec les mêmes quantités comme précédemment décrit avec l´éthanol.

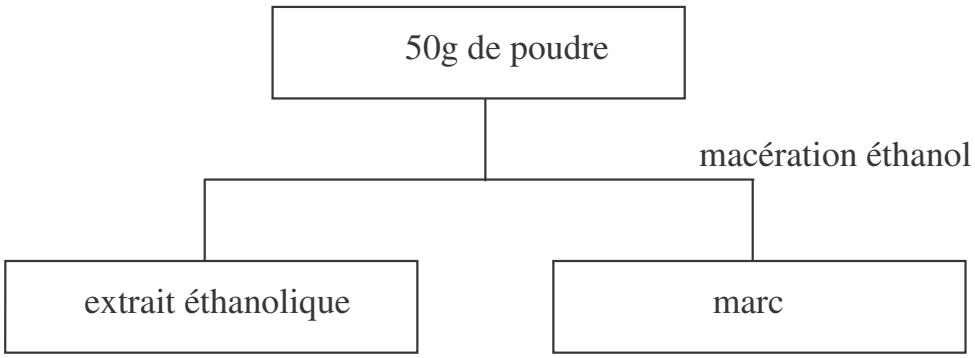



**Figure N° 4**: Schéma de la macération dans l'eau et l'éthanol

### 1. 2. 3. Extraction par épuisement par les solvants

✹ Matériel : nous avons utilisé le même matériel que la macération.

✹ Méthode : à 250 g de poudre, nous avons ajouté 500 ml d´éther de pétrole, mélangé, laissé macérer pendant 24 h et filtré, concentré au rotavapor et le résidu a été séché à la température ambiante. L´opération a été répétée 3 fois. Sur le marc nous avons versé 500 ml de dichlorométhane et procédé de la même manière qu´avec l´éther de pétrole. Après nous avons versé successivement sur le marc le méthanol et l´éthanol à 80% selon le même processus à la différence que les extraits éthanolique et méthanolique ont été filtrés et lyophilisés après concentration.

Après cette étape le marc a été séché à la température ambiante, ensuite pesé pour effectuer la digestion et la décoction pendant 3 h chacune avec 1500ml d´eau distillée et selon le même procédé que la première décoction.

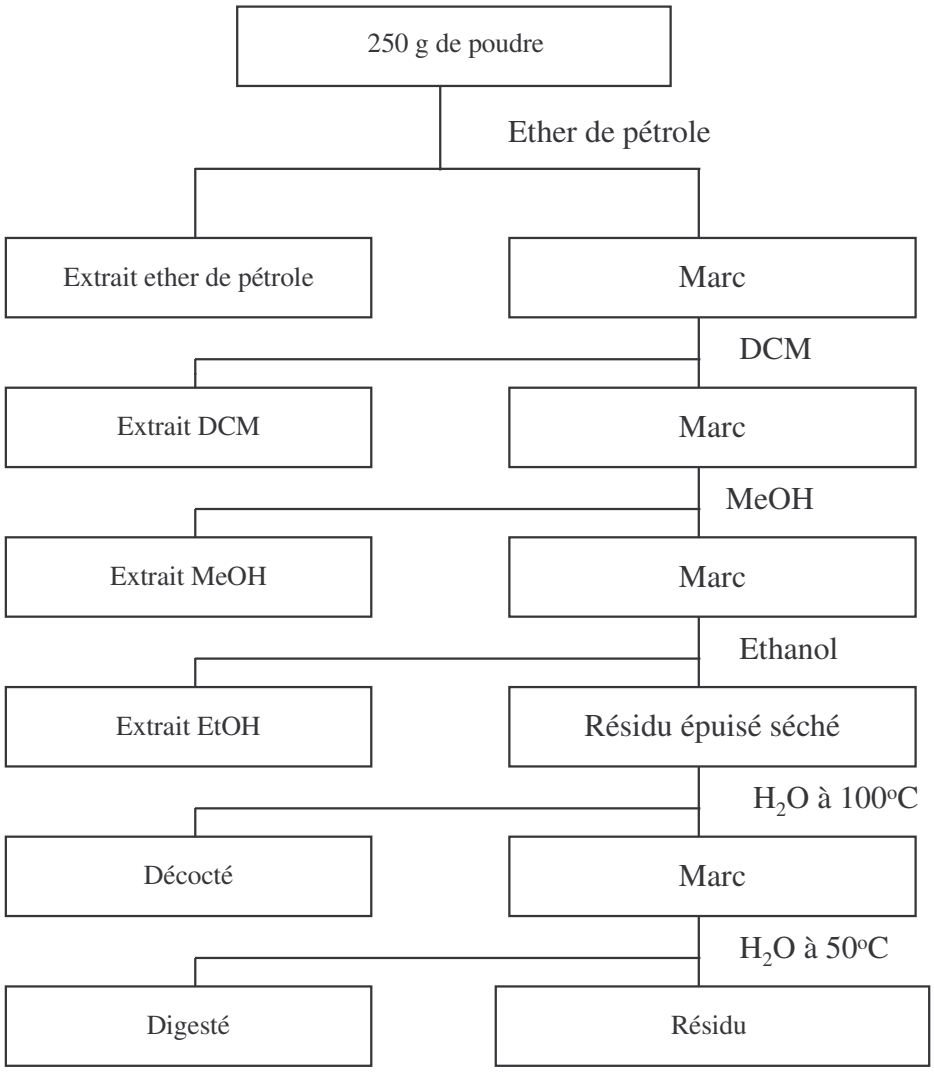



**Figure N° 5** Schéma de l'extraction par épuisement successif par les solvants

## 1. 3. ETUDES PHYTOCHIMIQUES

Les recherches ont porté sur la recherche dans la poudre de rameaux feuillés des principaux groupes chimiques, nous avons effectué des réactions en tubes.

### 1. 3. 1. Recherche des alcaloïdes

Elle a été effectuée par des réactions de précipitation avec les réactifs généraux des alcaloïdes (Valser - Mayer et Dragendorff ).

Un extrait sulfurique a été préparé à partir de 10 g de poudre et de 500 ml de $H_2SO_4$ à 10%. Après une macération de 24 h à la température ambiante le macéré a été filtré sur papier filtre et lavé à l´eau distillée de manière à obtenir 500 ml.

Le procédé a consisté à prendre 1 ml de ce filtrat dans 2 tubes à essai et à ajouter 5 gouttes du réactif de Mayer dans le premier tube et 5 gouttes du réactif de Dragendorff dans le second tube, l'apparition de précipités indique la présence d´alcaloïdes.

**✷Alcaloïdes des solanacées mydriatiques**

Au résidu de la deuxième capsule ajouter 1 ml d´acide nitrique fumant et évaporer à sec au bain marie bouillant, après refroidissement ajouter 10 ml d´acétone pur et quelques gouttes d´une solution de KOH à 5 % dans l´éthanol. L´apparition d´une coloration violette indique la présence des alcaloïdes de solanacées mydriatiques.

**✷Dosage des alcaloïdes**

La solution à analyser est obtenue en agissant 25 ml de $H_2SO_4$ à 10% et 5 ml d´eau distillée sur 3 g de poudre. Au filtrat ajouter du $NH_4OH$ à 1/2 jusqu´à pH 8-9, extraire avec 50 ml de chloroforme, soutirer sur du sulfate de sodium anhydre et filtrer la phase chloroformique dans une capsule tarée ( de masse M ); évaporer l´extrait à sec et peser la capsule de nouveau

( masse M´)

La masse d´alcaloïdes (M A) est déterminée par la formule suivante :

$$M\,A = M' - M$$

Le pourcentage d´alcaloïdes ( P A ):

$$P\,A = 100\ \frac{M\,A}{\text{--------}}$$

**P E**

P E : Masse de la prise d´essai

**1. 3. 2. Recherche des substances polyphénoliques**

La solution à analyser est un infusé aqueux à 5 % c´est à dire 5 g de poudre dans 100 ml d´eau distillée bouillante, infuser pendant 15 mn, puis filtrer.

**1. 3. 2. 1. Les Tanins**

A 5 ml de ce filtrat ajouter 1 ml de $FeCl_3$ à 1 %, en présence de tanins il se développe une coloration bleue noirâtre.

✹ **Différentiation tanins galliques et cathéchiques : Réaction de STIASNY**

A 30 ml d´infusé ajouter 15 ml du réactif de Stiasny, chauffer le mélange au bain marie pendant 15 mn; l´apparition de précipités montre la présence de tanins cathéchiques.

Pour révéler les tanins galliques il faut saturer 10 ml de l´infusé avec l´acétate de sodium pulvérisé, et ajouter ensuite 1 ml d´une solution de $FeCl_3$ à 1 %, le développement d´une teinte bleue - noire indique la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de **Stiasny.**

**1. 3. 2. 2. Les Flavonoïdes**

A 5 ml de l´infusé ajouter 5 ml d´alcool chlorhydrique, 1 ml d´alcool iso amylique et quelques copeaux de magnésium, l´apparition d´une coloration:

- rose orangée indique la présence de flavones
- rose violacée indique celle des flavanones
- rouge indique la présence de flavanols et flavanonols

Cette réaction est dite à la **Cyanidine.**

La même réaction sans copeaux de magnésium mais chauffée au bain marie pendant 15 mn permet de détecter la présence de **Leucoanthocyanes** en cas d´apparition de coloration rouge cerise ou violacée.

**1. 3. 3. Recherche de dérivés Anthracéniques**

**1. 3. 3. 1. Anthracéniques libres**

A 1 g de poudre ajouter 10 ml de chloroforme chauffer au bain marie pendant 3 mn et filtrer; à 1 ml de ce filtrat ajouter 1 ml d´ammoniaque et observer la coloration rouge indiquant la présence d´anthracéniques libres: c´est la réaction de **Borntragger**.

**3. 1. 3. 2. Anthracéniques combinés**

✹ **Les *O* - Hétérosides**

Sur la poudre précédemment épuisée par le chloroforme ajouter 10 ml d´eau distillée et 1 ml de HCl, chauffer au bain marie pendant 15 mn puis filtrer.

Prendre 5 ml de ce filtrat, extraire avec 5 ml de chloroforme. A la phase organique ajouter 1 ml de $NH_4OH$ dilué. L´apparition d´une coloration rouge indique la présence d´anthraquinones sous la forme *O*-hétérosides.

A la suite de cette réaction nous avons recherché:

✹**Les *O*- Hétérosides à génines réduites**

A 5 ml du filtrat précédent ajouter 3 à 4 gouttes de $FeCl_3$ à 10%, chauffer au bain marie pendant 5 mn, extraire ensuite avec 5 ml de chloroforme. A la phase organique ajouter 1 ml de $NH_4OH$ dilué. L´apparition d´une coloration rouge plus intense qu´au départ indique la présence des anthranols où anthrones .

✹**Les *C* - Hétérosides**

La solution à analyser est la phase aqueuse obtenue avec la solution à analyser des *O*-hétérosides à laquelle il faut ajouter 10 ml d´eau et 1 ml de $FeCl_3$. Après chauffage au bain marie pendant 30 mn extraire avec 5 ml de chloroforme, soutirer la phase organique et ajouter 1 ml de $NH_4OH$ diluée. L´apparition de coloration rouge indique la présence de *C*- hétérosides.

**1. 3. 4. Recherche des Coumarines, Caroténoïdes, Stérols et Triterpènes**

La solution à analyser pour ces composés est un filtrat éther éthylique obtenu par macération pendant 24 h de 1 g de poudre dans 20 ml d´éther.

**1. 3. 4. 1. Coumarines**

Evaporer à sec 5 ml du filtrat , ajouter 2 ml d´eau chaude , partager la solution entre 2 tubes à essai. Au contenu de l´un des tubes ajouter 0,5 ml de $NH_4OH$ à 25 % et procéder

à l´observation sous U V à 366 nm, une fluorescence intense indique la présence de coumarines.

**1. 3. 4. 2. Caroténoïdes**

Evaporer à sec 5 ml de la solution à analyser, ajouter au résidu 2 à 3 gouttes d´une solution saturée de $SbCl_3$ dans $CHCl_3$, l´apparition d´une coloration bleue indique la présence de caroténoïdes.

**1. 3. 4. 3. Stérols et triterpènes**

Evaporer à sec 10 ml de la solution à analyser , dissoudre le résidu dans 1 ml d´anhydride acétique puis 1 ml de chloroforme et répartir la solution entre 2 tubes à essai. A l´aide d´une pipette ajouter 1 ml de $H_2SO_4$ concentré au fond du tube sans agiter, la formation d´un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence de stérols et triterpènes. C´est la réaction de **Liebermann Buchard**.

**1. 3. 5. Recherche des hétérosides cyanogénétiques**

Introduire le papier picrosodé fraîchement préparé dans un tube à essai ( sans toucher les parois ni tremper dans la solution ) contenant un mélange de 1 g de poudre 5 ml d´eau distillée et 5 ml de toluène . La présence d´hétérosides cyanogénétiques est indiquée par la coloration rouge plus ou moins rapide du papier picrosodé.

**1. 3. 6. Recherche des hétérosides cardiotoniques**

Ajouter à 1 g de poudre 10 ml d´alcool à 60°et 5 ml d´une solution d´acétate neutre de plomb, chauffer au bain marie pendant 10 mn et filtrer. Extraire ce filtrat avec 10 ml de chloroforme, partager la phase organique entre 3 tubes à essai, évaporer le contenu de chaque tube à sec. Reprendre les résidus avec 0,5 ml d´isopropanol et ajouter 1 ml des réactifs de KEDDE , BALJET et RAYMOND respectivement dans les 3 tubes , le résultat suivant indique la présence de cardénolides :

- tube avec réactif de **KEDDE** : coloration rouge violacée
- tube avec réactif de **BALJET** : coloration orangée
- tube avec réactif de **RAYMOND** : coloration violette fugace .

**1. 3. 7. Recherche de saponosides: Indice de mousse**

La solution à analyser est obtenue par une décoction à 1 % pendant 15 mn.

Dans 10 tubes à essai, introduire respectivement 1 , 2 , …..jusqu´à 10 ml de la solution à analyser, ajuster le contenue de chaque tube à 10 ml avec l´eau distillée Agiter chaque tube 2 fois par seconde pendant 15 secondes, laisser les tubes au repos 15 mn et mesurer les hauteurs de mousse.

L´indice de mousse ( I ) est calculée par la formule suivante :

$$I = \frac{1000}{N}$$

N est le numéro du tube où la hauteur de mousse est égale à 1 cm.

**1. 3. 8. Recherche de Stupéfiants : les Tétrahydrocannabinols**

A 0,5 g de la poudre ajouter 5 ml d´éther de pétrole et agiter pendant 15 mn, filtrer dans une capsule et évaporer le filtrat à sec au bain marie. Au résidu, ajouter 3 à 4 gouttes de KOH à

5 % dans l´alcool une coloration violette indique la présence de tétrahydrocannabinols**.**

**1. 3. 9. Autres recherches**

La solution à analyser est un décocté aqueux à 10 % obtenu au bout de 15 mn.

**1. 3. 9. 1. Composés réducteurs**

Au résidu d´évaporation de 5 ml de la solution à analyser ajouter 1 ml du réactif de **Fehling**, l´obtention d´un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs.

**1. 3. 9. 2. Oses et Holosides**

Evaporer à sec 5 ml de la solution à analyser, reprendre le résidu avec 2 à 3 gouttes de $H_2SO_4$ concentré, attendre 5 mn et ajouter 3 gouttes d´alcool saturé avec le thymol. l´apparition d´une coloration rouge indique la présence d´oses et holosides.

**1. 3. 9. 3. Mucilage**

A 1 ml de la solution à analyser ajouter 5 ml d´alcool absolu l´apparition de précipités floconneux montre la présence de mucilage.

## 1. 4. DETERMINATION DE LA TENEUR EN EAU

Pour la détermination de la teneur en eau deux méthodes ont été utilisées:

### 1. 4. 1. Méthode gravimétrique ou pondérale

✹ Principe: il consiste à déterminer la masse de la perte en eau d´une prise d´essai après un séjour de 24 h à l´étuve.

✹ Mode opératoire: dans 5 creusets tarés de masses respectives ( $M_1$, $M_2$,….$M_5$ ) nous avons mis une certaine quantité de poudre et repesé les creusets ( les masses totales : $M´_1$.....$M´_5$ ), avant de les mettre à l´étuve à 100° C pendant 24 h. Après ce temps nous les avons pesés de nouveau ( $M´´_1$ …….$M´´_5$ ).

La masse d´eau (Me ) contenue dans la poudre de chaque creuset est donnée par la formule suivante:

$$\mathbf{Me = M´ - M´´}$$

La masse de la prise d´essai :

$$\mathbf{P\,E = M´ - M}$$

Le Pourcentage d´eau contenue dans la poudre :

$$\text{Pourcentage d´eau} = 100 \quad \frac{M\,e}{P\,E}$$

Nous avons fait une moyenne avec les pourcentages d´eau des 5 creusets réalisés dans les mêmes conditions.

### 1. 4. 2. Méthode azéotropique

✹ Principe : il consiste à entraîner l´eau contenue dans une prise d´essai de la drogue par distillation avec un solvant non miscible .

✹ Mode opératoire: dans un ballon en verre sec, nous avons introduit 100 ml de xylène et 1 ml d´eau, laissé distiller pendant 1 h sous un réfrigérant muni d´un tube conique gradué dans lequel l´eau condensée est récupérée. Après 30 mn de refroidissement nous avons lu le volume d´eau ( $V_1$) et ajouter 5 g de poudre au contenu du ballon. Le

mélange a été distillé pendant 1 h. Après refroidissement pendant 30 mn, nous avons lu le nouveau volume d´eau ($V_2$ ). Le volume d´eau contenu dans la prise d´essai est calculé par la formule suivante:

$$\mathbf{V = V_2 - V_1}$$

Le pourcentage d´eau est calculé comme suit :

$$\text{Pourcentage d´eau} = 100 \quad \frac{V_2 - V_1}{P\,E}$$

P E : Masse de la prise d´essai

### 1. 4. 3. Substances extractibles par l´eau

Pour déterminer le pourcentage de substances solubles dans l´eau nous avons effectué une décoction pendant 15 mn de 1 g de poudre dans 20 ml d'eau distillée, le filtrat recueilli dans une capsule tarée ( masse M ) a été évaporé à sec à l´étuve et la capsule pesée de nouveau
( masse M´). Le pourcentage (P ) de substances extractibles par l´eau est déterminé par la formule suivante:

$$\mathbf{P = 100\,(M' - M)}$$

## 1. 5. DETERMINATION DE LA TENEUR EN CENDRES

### 1. 5. 1. Cendres totales

✹ Principe: la détermination des cendres est une méthode utilisée pour mesurer la quantité de substances résiduelles non volatiles contenues dans la drogue lorsqu´un échantillon est brûlé.

✹ Mode opératoire: nous avons pesé une prise d´essai de la drogue ( M´) dans un creuset préalablement taré ( M ). Après incinération au four entre 600 et 800° C pendant 5 à 6 h et refroidissement dans un dessiccateur, nous avons déterminé la masse du creuset contenant la prise d´essai ( M´´ ).

La masse de cendres totales (M Ct ) contenues dans le creuset est déterminée par la formule suivante :

$$\mathbf{M\ Ct = M'' - M}$$

La masse de la prise d´essai :

$$\mathbf{P\ E = M' - M}$$

Le pourcentage de cendres totales :

$$P\ C\ t = 100\ \frac{M\ C\ t}{P\ E}$$

Nous avons réalisé 5 essais de la même manière afin de déterminer un pourcentage moyen.

**1. 5. 2. Cendres insolubles dans l´acide chlorhydrique**

✹ Principe : Ces cendres sont le résidu obtenu en faisant bouillir les cendres totales dans de l´acide chlorhydrique à 10 %, leur détermination permet de mesurer la quantité de matières siliceuses, spécialement de la terre siliceuse contenue dans la drogue.

✹ Mode opératoire: sur les cendres totales nous avons versé 20 ml de HCl et laissé bouillir 15 mn au bain marie. Après refroidissement nous avons recueilli et lavé la matière non soluble sur un papier filtre sans cendre, le filtre a été transféré dans un creuset sec déjà taré

( masse M ), l´ensemble est pesé ( masse M´ ) incinéré et repesé ( masse M´´).

Le pourcentage de cendre insoluble dans l´acide chlorhydrique ( P C i ) est déterminé par la formule suivante :

$$P\ C\ i = 100\ \frac{M\ Ci}{P\ E}$$

La masse de cendre insoluble dans l´acide chlorhydrique (Mci )

$$\mathbf{M\ Ci = M'' - M}$$

La masse de la prise d´essai : $\mathbf{P\ E = M' - M}$

### 1. 5. 3. Cendres sulfuriques

✹ Principe: Ces cendres sont les substances résiduelles non volatilisées recueillies lorsque l´échantillon de drogue est brûlé avec de l´acide sulfurique concentré. Ces cendres déterminent la quantité de substances inorganiques contenues dans la drogue.

✹ Mode opératoire: dans un creuset en quartz sec taré ( masse M) nous avons introduit une prise d´essai de la poudre et pesé l'ensemble (masse M´ ). La poudre a été ensuite humectée avec $H_2SO_4$ concentré et laissée au contact de la chaleur d´une étuve pendant 24 h, le creuset a été porté à calcination dans un four pendant 6 h et pesé ensuite après refroidissement (masse M´´ ). La masse de cendres sulfuriques ( M Cs) est calculée comme suit:

$$\mathbf{M\ C\ s = M'' - M}$$

La masse de la prise d´essai : $\mathbf{P\ E = M' - M}$

Le pourcentage de cendres sulfuriques P C s :

$$P\ C\ s = 100\ \frac{M\ C\ s}{P\ E}$$

## 1. 6. METHODES CHROMATOGRAPHIQUES

### 1. 6. 1. Chromatographie sur couche mince ( C C M )

La C C M est une méthode de séparation physico-chimique faisant intervenir une phase stationnaire ou adsorbant et une phase mobile ou éluant.

✹ Matériel : une plaque en silice G F $_{254}$ qui sert de support, une cuve de migration, un séchoir électrique, des micro pipettes, une pince, une lampe U V.

✹ Solvants : acétate d´éthyle, méthanol, chloroforme, ligroïne, eau.

✹ Dépôt des solutions à étudier:

Les extraits étudiés ont été dissous à raison de 10 mg dans 1 ml de solvant approprié**:** acétate d´éthyle pour les extraits dichlorométhane, éther de pétrole, le méthanol pour les autres extraits organiques et le mélange eau - méthanol pour les extraits aqueux.

Les solutions ont été déposée sous forme de point distant de 1 cm les uns des autres et de 1,5 cm des deux bords de la plaque, le dépôt se faisait en faible quantité ( 10 µl ) à l´aide de micropipettes. Chaque dépôt a été évaporé à sec à l´aide d´un courant d´air ( séchoir ).

✹ Migration:

La plaque a été introduite dans la cuve de migration contenant la phase mobile constituée par un ou plusieurs solvants: ligroïne - acétate d´éthyle ( 2 - 1 ), chloroforme - méthanol - eau

( 65 - 35 - 5 ). L´écoulement de la phase mobile provoque une migration et la séparation des composés. Le développement ascendant a été arrêté lorsque le front du solvant a atteint 8 cm.

✹ Révélation :

Les plaques ont été séchées à la température ambiante et les taches détectées par observation sous la lampe ultraviolette ( U V ) réglée à 254 et 366 nm et par les réactions colorées par pulvérisation de réactifs généraux où spécifiques de certains composés. Nous avons utilisé le réactif de **GODIN**.

✹ Rapport frontal ( Rf ) :

En C C M la grandeur fondamentale est le rapport de la distance parcourue par la substance

( Dx ) sur celle parcourue par le front du solvant ( Ds )

$$Rf = \frac{Dx}{Ds}$$

Rf est toujours compris entre 0 et 1.

La C C M est un moyen simple pour déterminer la pureté d´un composé, si celui ci n´a subi aucune dégradation il ne doit y avoir qu´une seule tâche à la révélation. L´identité d´une substance inconnue peut être orientée en comparant son Rf avec celui d´un témoin authentique.

### 1. 6. 2. Chromatographie sur colonne Biogel P6

La chromatographie sur colonne est une méthode de fractionnement des extraits en vue de déterminer leur composition. Son principe repose sur la séparation selon la masse moléculaire, les substances de masse élevée sont les premières à être recueillies.

✹ Matériel: une colonne en Biogel P6, une pompe d´aspiration de type Pharmacia Biotech Pump P-1, un collecteur de tube pharmacia Biotech Redifrac, des tubes à essais, un filtre en microfibres de verre type Watman circulaires de diamètre 110 mm, un filtre millipore type Millex AA de diamètre 0,8 µm et un spectrophotomètre type NOVASPEC 2 BIOTECH.

✹ Solvants: eau distillée dégazée, phénol à 4 %, l´acide sulfurique.

✹ Préparation de la solution à chromatographier:

Nous avons dissout 5 g d´extrait dans 100 ml d´eau distillée dégazée, filtré sous vide, la solution obtenue a été introduite dans la colonne à l'aide de la pompe.

✹ Elution :

Le solvant d´élution ( eau distillée dégazée ) a été administré à la colonne également par la pompe, le débit était réglé à 1 ml / mn. L´éluat a été recueilli dans des tubes disposés sur un collecteur réglé à son tour à 15 mn / tubes.

✹ Détermination de la densité optique:

Sur 200 µl du contenu de chaque tube nous avons ajouté 2 ml de $H_2SO_4$ et 1 ml de phénol, après 20 mn de repos nous avons déterminé la densité optique au spectrophotomètre à 487 nm.

La courbe densité optique / numéro de tube a été tracée, elle permet de déterminer les différentes fractions de l´extrait analysé.

**1. 6. 3. Chromatographie en phase gazeuse**

# Cette chromatographie a été réalisé avec la collaboration de l'université d'OSLO.

Elle est utilisée pour l´identification et la détermination quantitative des monosaccharides contenus dans les extraits. La phase mobile est gazeuse, les molécules à analyser sont transformées à l´état gazeux.

✹ Principe:

Les monosaccharides sont identifiés par comparaison de leur temps de rétention avec des temps de rétention du standard. Les masse des monosaccharides sont obtenues à partir des aires relatives. Le standard utilisé a été le mannitol.

✹ Matériel: un chromatographe de type GS 8000 Séries, une seringue de 5µl, des flacons de 4 ml, un enregistreur

✹ Procédure:

Les échantillons méthanolysés ont été dissous dans 100 µl de TMS et laissé reposer 20 mn. 1 µl de cette solution a été injecté dans le chromatographe programmé comme suit:

- Gaz porteur : hélium
- Pression : 80 bars
- Détecteur: à flamme donné par un mélange de hydrogène - air
- Température : elle allait de 140° à 170° - 250° - 300° avec une augmentation de 1° / mn entre 140 et 170°.
- Temps d'arrêt: 35 mn, temps au bout duquel les sucres sont détectés.

A la fin du processus les différents monosaccharides sont identifiés sur les chromatogrammes en fonction de leur temps de rétention.

## 1. 7. METHODES CHIMIQUES

### 1. 7. 1. Hydrolyse acide

✹ Matériel: étuve type Memert, balance analytique, tubes à essai, pipette, ampoule à décanter éprouvette graduée, bécher ballon, rotavapor

✹ Procédure: 5 mg de chaque fraction ont été dissous dans 10 ml de HCl 2N et placés dans un four réglé à 100° C pendant 3 h, après refroidissement nous avons extrait 3 fois la solution avec 5 ml de chloroforme, évaporé à sec les phases aqueuses et récupéré le résidu avec quelques gouttes du mélange méthanol - eau ( 1 - 1 ). Une CCM a été réalisée sur cette solution et celles des sucres témoins: l'arabinose, le rhamnose, le xylose, le mannose, le galactose, le glucose, les acides glucuronique et galacturonique dissous à raison de 1 mg dans 1 ml du mélange méthanol - eau.

La migration a été effectuée dans le système isopropanol - eau ( 85 - 15 ), la plaque a été révélée avec une solution de naphtorésorcinol et chauffée à l´aide d´un courant d´air ( séchoir ).

Les taches ont apparu colorées sur un fond jaune, les sucres contenus dans les fractions ont été identifiés par comparaison de leurs Rf avec ceux des témoins.

### 1. 7. 2. Méthanolyse

La composition en sucres des fractions peut être déterminée aussi par chromatographie en phase gazeuse d´un dérivé triméthyl sililaté obtenu par méthanolyse.

A 2 mg de chaque fraction nous avons ajouté 1 ml de méthanol chlorhydrique 4 M et 200 µl du mélange mannitol méthanol ( 1000 µg / µl ), incubé le mélange à 80° pendant 24 h. Après ce temps, le mélange a été évaporé à sec sous un courant d´air chaud et d'azote et le résidu lavé avec 1 ml de méthanol 2 fois.

Ce résidu additionné de 100 µl de solution triméthyl silane ( TMS ) est utilisé pour la CPG.

# 2. TESTS PHARMACOLOGIQUES

### 2. 1. ACTIVITÉ ANTI OXYDANTE

On définit comme radical libre, n'importe quelle molécule indépendante contenant un ou plusieurs électrons non appariés. Bien que le terme de radical libre ait souvent été assimilé à une espèce réactive ou à un oxydant, il est important de signaler que tous les radicaux libres ne sont pas forcement des oxydants de même, tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres.

On désigne par antioxydant toute substance qui lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat.

Les antioxydants d'origine naturelle semblent contribuer de manière significative à la prévention de certaines maladies telles que les cancers et les maladies cardiovasculaires.

**✹ Test de réduction du DPPH**

Ce test a été réalisé au sein du laboratoire.

Le test a été effectué sur un chromatogramme des extraits de la plante, les extraits sont déposés sur une plaque et développés dans les systèmes appropriés. Après la migration et le séchage les plaques sont révélées avec une solution de DPPH à 2 mg / ml de méthanol, les composés actifs apparaissent sous forme de taches jaunes sur un fond pourpre.

## 2. 2. ACTIVITE ANTIPLASMODIALE

**Test sur *Plasmodium falciparum in vitro:***

Ce test a été effectué en collaboration avec l'institut des maladies tropicales de Bâle en Suisse

✹ **Espèce standard** : *Plasmodium falciparum* souche $K_1$( résistante à la chloroquine et à la pyriméthamine ).

✹ **Médicament témoin**: Chloroquine ( Sigma C6628 )

✹ **Conditions standards**:

- Milieu de culture: RPMI 1640 avec Hypoxanthine Hepes 5,94 g/l; $NaHCO_3$ 2,1 g/l; Néomycine 100 U/ml Albumax$^R$ 5 g/l.
- Plaques : Costar $^{TM}$ 96
- Incubation: Chambre humide contenant 4% $CO_2$, 3% $O_2$, 93 % $N_2$

✹ **Préparations des extraits**

Les extraits ont été dissous dans le diméthyl sulfoxyde DMSO à 10mg/ml, pour la dissolution le mélange a été chauffé ou placé dans un bain marie à ultrason si nécessaire . Les mélanges ont été incubés à 4° *C* pendant 2 semaines et après à -20° *C*

Pour le test des dilutions récentes sont préparées à chaque fois.

✹ **Procédure du test:**

- Préparer un milieu fluide avec le stock de culture,
- préparer une solution de cellules parasitées ayant un taux d´hématocrite égal à 2,5% et une parasitémie de 0,3%,
- verser 100 µl du milieu de culture dans chaque trou de la plaque,
- verser 100 µl du milieu contenant la substance à tester à une concentration 4 fois supérieure dans les trous de la ligne B.

- prélever 100 µl des trous de la ligne B après mélange et les transférer dans les trous de la ligne C et ainsi de suite jusqu´à la ligne H, une série de dilution à facteur ½ est ainsi obtenue. Les concentrations du composé à tester vont de 5 µg/ml à 78 ng/ml

- ajouter 100 µl de la solution de cellules parasitées au contenu de chaque trou de la plaque exceptés les trous A9 à A12 qui reçoivent une solution de cellules non infectées. Tous les trous ont un taux d´hématocrite égal à 1,25% et une parasitémie de 0,15% au début de l'incubation.

La chloroquine a été utilisée comme standard à une concentration maximale de 200 ng/ml.

- Soumettre la plaque à l´incubation pendant 48 heures, après ajouter 100 µl d´hypoxantine dans chaque trou et incuber de nouveau pendant 24 heures, centrifuger et récupérer les hématies sur un filtre où elles sont lavées et observées au microscope afin de déterminer la parasitémie; l´inhibition est déterminée par une méthode graphique et la concentration inhibitrice 50 % est calculée.

# CHAPITRE 2: RESULTATS

## 1. ETUDES PHYTOCHIMIQUES

### 1. 1. EXTRACTIONS

La masse des rameaux frais était de 7 Kg, après séchage et pulvérisation la masse de la poudre obtenue était de 2,250 Kg.

**TABLEAU N° 4:** Masses et couleurs des extraits, rendements des extractions

| Natures des extraits | Masses des extraits ( g ) | Masses des prises d´essai ( g ) | Rendements des extractions % | Couleurs des extraits |
|---|---|---|---|---|
| Ether de pétrole | 1,5 | 250 | **0,60** | Vert foncé |
| Dichlorométhane | 1,63 | 250 | 0,65 | Vert noirâtre |
| Méthanol | 36,4 | 250 | 14,56 | Verdâtre |
| Ethanol épuisé | 18,74 | 250 | 7,5 | Jaunâtre |
| Ethanol total | 12,01 | 50 | **24,02** | Jaune - verdâtre |
| Digestion | 8,22 | 156,33 | 5,26 | Brune |
| Décocté épuisé | 7,96 | 156,33 | 5,09 | Brune |
| Décocté total | 6,19 | 50 | 12,38 | Brune |
| Macéré | 13,06 | 50 | **26,12** | Brune |

Ce tableau nous donne les masses, couleurs des extraits obtenus ainsi que les rendements des différentes extractions. Les extraits sont généralement de couleur brune ou verte.

## 1. 2. SCREENING PHYTOCHIMIQUE

**Tableau N° 5:** Différents groupes chimiques recherchés dans la poudre de rameaux.

| RECHERCHES | | RESULTATS |
|---|---|---|
| Alcaloïdes | Base | Précipité léger |
| | Sel | Précipité léger |
| | Solanacées | Négatif |
| | Pourcentage | 0,1 % |
| Flavonoïdes | Génines | + rose – orangé |
| | Hétérosides | + Flavones |
| Tanins | Réaction avec $FeCl_3$ | ++++ bleu - noir |
| | Réaction avec HCl | ++++précipité rouge |
| | Catéchiques | ++++ bleu – noir |
| | Galliques | ++++ bleu - noir |
| Saponosides | Mousse | Négatif |
| | Indice de mousse | 0 |
| Hétérosides cardiotoniques | Réactif de Kedde | +++ rouge-violacé |
| | Réactif de Baljet | +++ orangé |
| | Réactif de Raymond | +++ violet fugace |
| Stérols et triterpènes | Réation de Lieberman | ++ vert |
| Anthracéniques combinés | *C*-Hétérosides | Négatif |
| | *O*-Hétérosides | Négatif |
| Anthraceniques libres | | Négatif |
| Différentiation quinones | | Négatif |
| Hétérosides cyanogénétiques | | Négatif |
| Coumarines | | ++++ vert |
| Caroténoïdes | | Négatif |
| Composés réducteurs | | ++++ rouge-brique |
| Oses et holosides | | ++++ rouge |
| Mucilages | | ++++ flocons |
| Anthocyanes | | Négatif |
| Leuco-anthocyanes | | ++++ rouge-cérise |
| Stupéfiants ( tétrahydrocannabinols ) | | Négatif |

Les composés les plus abondants dans les rameux feuillés de *Alchornea cordifolia* sont essentiellement: les tanins, les hétérosides cardiotoniques, les composés réducteurs oses et holosides, les mucilages et les leuco-anthocyanes. Quant aux alcaloïdes, ils sont présents mais leur taux est faible.

Le test de recherche de tetrahydrocannabinols ( molécules stupéfiantes ) s´est avéré négatif, les dérivés antracéniques, les saponosides, et les hétérosides cyanogénétiques ont donné des réactions négatives par les techniques de caractérisations que nous avons utilisés.

### 1. 3. TENEURS EN EAU ET CENDRES

**Tableau N° 6:** Teneur en eau et les pourcentages en cendres des rameaux feuillés

| RECHERCHES | | RESUlTATS % |
|---|---|---|
| substances extractibles par l´eau | | 22,83 |
| Pourcentage d´Eau | méthode volumétrique | 4,22 |
| | entraînement azéotropique | 6 |
| Pourcentage de cendres | Totales | 5,35 |
| | Chlorhydriques (HCl 10% ) | 5,90 |
| | sulfuriques $H_2SO_4$ | 6,94 |

La poudre contient en moyenne 6% d´eau, prés de 23 % de ses substances sont solubles dans

l´eau et 6 % de ses cendres sont insolubles dans l´acide chlorhydrique.

### 1. 4. METHODES CHROMATOGRAPHIQUES

#### 1. 4. 1. C C M

Après la révélation à la lumière ultraviolette nous avons calculé les Rf des tâches observées .

**Tableau N° 7:** Rf et couleurs des différentes taches observées à l'UV 254, 366 nm et après révélation avec le réactif de Godin. (système de migration: chloroforme-méthanol-eau)

| Nature des Extraits | Taches observées | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Rf | 254 nm | 366 nm | Godin |
| Extrait éthanolique | 0,07 | Visible | - | - |
| | 0,09 | - | - | Rouge |
| | 0,2 | - | - | Grisâtre |
| | 0,26 | Visible | - | - |
| | 0,35 | Visible | - | Grisâtre |
| | 0,47 | Visible | - | Jaunâtre |
| | 0,55 | - | - | Jaunâtre |
| | 0,62 | Visible | - | Jaunâtre |
| | 0,68 | Visible | - | - |
| | 0,75 | - | Violette | - |
| | 0,81 | - | Violette | - |
| | 0,87 | Visible | Brune | Grisâtre |
| | 0,91 | - | Violette | - |
| | 0,95 | - | Rouge | - |
| | 0,98 | - | - | Rouge |
| Extrait éthanolique épuisé | 0,06 | Visible | - | - |
| | 0,09 | - | - | Rouge-orangé |
| | 0,17 | - | - | Rouge |
| | 0,24 | - | - | Rouge |
| | 0,27 | Visible | - | - |
| | 0,30 | - | - | Rouge |
| | 0,34 | - | - | Grisâtre |
| | 0,47 | Visible | - | - |
| | 0,51 | - | - | Jaunâtre |
| | 0,59 | - | - | Jaune |
| | 0,62 | Visible | - | - |
| | 0,67 | - | - | Rouge |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 0,69 | Visible | - | - |
| | 0,72 | - | - | Rouge |
| | 0,74 | - | Violette | - |
| | 0,80 | Visible | Brune | - |
| | 0,86 | - | Brune | Rouge |
| | 0.89 | Visible | Violette | - |
| | 0,9 | - | Rouge | - |
| | 0,97 | - | - | Rouge |
| Extrait Méthanolique | 0,1 | Visible | - | Rougeâtre |
| | 0,19 | - | - | Rouge |
| | 0.22 | Visible | - | - |
| | 0,27 | Visible | - | - |
| | 0,34 | - | - | Grisâtre |
| | 0,6 | Visible | - | - |
| | 0,66 | - | Brune | - |
| | 0,74 | - | Violette | |
| | 0,79 | Grisâtre | - | - |
| | 0,86 | - | - | Rouge |
| | 0,89 | Visible | Violette | - |
| | 0,95 | - | Rouge | Rouge |
| Décocté | 0,1 | Visible | - | Rougeâtre |
| | 0,17 | - | - | - |
| | 0,25 | - | Brune | - |
| | 0,34 | - | - | Grisâtre |
| | 0,4 | - | - | Rouge |
| | 0,46 | Visible | - | - |
| | 0,54 | - | Brune | - |
| | 0,75 | - | Violette | - |
| | 0,81 | Visible | - | - |
| | 0,86 | - | - | Bleue |
| | 0,90 | Visible | - | - |
| Décocté épuisé | 0,1 | - | Brune | - |
| | 0,26 | - | Brune | Grisâtre |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 0,45 | - | Brune | Rougeâtre |
| | 0,55 | Visible | - | Grisâtre |
| | 0,67 | Visible | Brune | - |
| | 0,75 | - | Brune | - |
| | 0,82 | Visible | - | - |
| | 0,91 | - | - | Rouge |
| Macéré | 0,15 | - | Brune | - |
| | 0,21 | Visible | - | - |
| | 0,26 | - | - | Rouge |
| | 0,32 | - | - | Rouge |
| | 0,77 | - | Brune | - |
| | 0,81 | Visible | - | - |
| | 0,85 | - | - | Rouge |
| | 0,90 | - | Violette | Rouge |
| | 0,95 | Visible | - | - |

Toutes les taches visibles à 254 nm sont de couleur grisâtre. Après révélation avec le réactif de Godin plusieurs taches ont apparu colorées en rouge.

(Espace image réservé)

**Figure N° 6:** CCM des extraits dans le système chloroforme méthanol eau (65-35-5 ) révélée avec le réactif de Godin.
3 = extrait éthanolique; 4 = 10 = extrait éthanolique épuisé; 5 = extrait méthanolique; 6 = décocté; 7 = macéré; 8 = décocté épuisé; 9 = digestion.

**Tableau N° 8**: Rf et couleurs des taches observées à 254, 366 nm et après révélation avec le réactif de Godin (système de migration: ligroïn acétate d'éthyle)

| Nature des extraits | Taches | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Rf | 254 | 366 | Godin |
| Dichlorométhane | 0,05 | Violacée | - | Rouge |
| | 0.08 | - | - | Jaunâtre |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 0,15 | Bleue-verdâtre | Orangée | Bleue |
| | 0,24 | Verdâtre | Bleue | - |
| | 0,30 | Verdâtre | Bleue | - |
| | 0,34 | Grisâtre | Rouge | Grisâtre |
| | 0,39 | Verdâtre | Rouge | Grisâtre |
| | 0,46 | Verdâtre | Rouge | Jaune |
| | 0,56 | Violacée | Rouge | Jaune |
| | 0,66 | - | Bleue | Rouge |
| | 0,75 | Grisâtre | - | Violette |
| | 0,79 | - | Rouge | - |
| | 0,86 | - | Bleue | - |
| | 0,90 | - | Rouge | - |
| | 0,95 | Grisâtre | Bleue | - |
| | 0,97 | Jaune | - | Rouge |
| Ether de pétrole | 0.05 | Grisâtre | Orangée | - |
| | 0,1 | Grisâtre | Bleue | - |
| | 0,15 | Grisâtre | Bleue | Grisâtre |
| | 0,2 | Grisâtre | - | - |
| | 0,22 | - | Verte | Jaunâtre |
| | 0,31 | - | Bleue | - |
| | 0,36 | - | - | Rouge |
| | 0,41 | - | Rouge | - |
| | 0,55 | Verte | Rouge | Rouge |
| | 0,66 | Verte | Rouge | - |
| | 0,72 | Verte | Bleue | Violette |
| | 0,84 | - | Bleue | Rouge |
| | 0,87 | - | Bleue | - |
| | 0,91 | Bleue | Bleue | - |
| | 0,95 | Grisâtre | Bleue | - |
| | 0,97 | Grisâtre | Rouge | Rouge |

A 254 nm les taches présentent diverses couleurs que l'on peut différentier à l'œil nu.

La majorité des taches présentent une fluorescence bleue à 366 nm, cette caractéristique est celle des tanins polyphénoliques.

(Espace image réservé)

**Figure N° 7:** CCM des extraits éther de pétrole et dichlorométhane dans le système de solvant ligroïne acétate d'éthyle révélée avec le réactif de Godin.

### 1. 4. 2. Chromatographie sur colonne Biogel P6

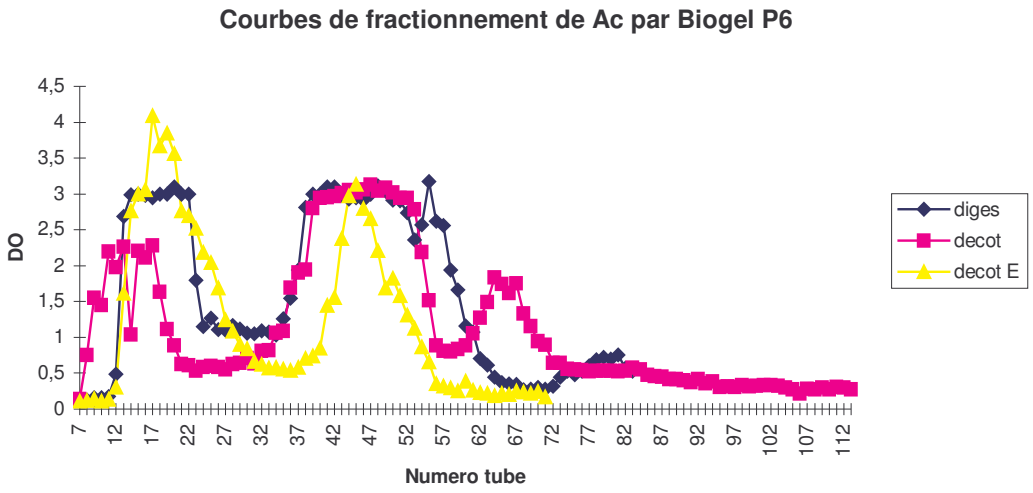



**Figure N° 8:** Courbe de fractionnement des extraits aqueux des rameaux feuillés de A c

Cette courbe permet de déterminer les différentes fractions des extraits analysés. Ces extraits ont donné chacun 3 fractions facilement identifiables sur la courbe, à part la digestion qui a donné une quatrième fraction sous forme d´un pic

**Tableau N° 9:** Numéro des tubes des différentes fractions des extraits aqueux

| Extraits | Fractions | Numéro des tubes |
|---|---|---|
| Décocté | F1 | 7 – 22 |
| | F2 | 23 – 60 |
| | F3 | 61 – 116 |
| Décocté épuisé | F1 | 10 – 35 |
| | F2 | 36 – 54 |
| | F3 | 55 – 71 |
| Digesté | F1 | 6 – 30 |
| | F2 | 31 – 53 |
| | F3 | 54 – 71 |
| | F4 | 72 – 83 |

### 1. 4. 3. La chromatographie en phase gazeuse

Elle a permis d´identifier plusieurs monosaccharides: le glucose, le galactose, le rhamnose, le xylose, le mannose, l´arabinose et les acides galacturonique et glucuronique.

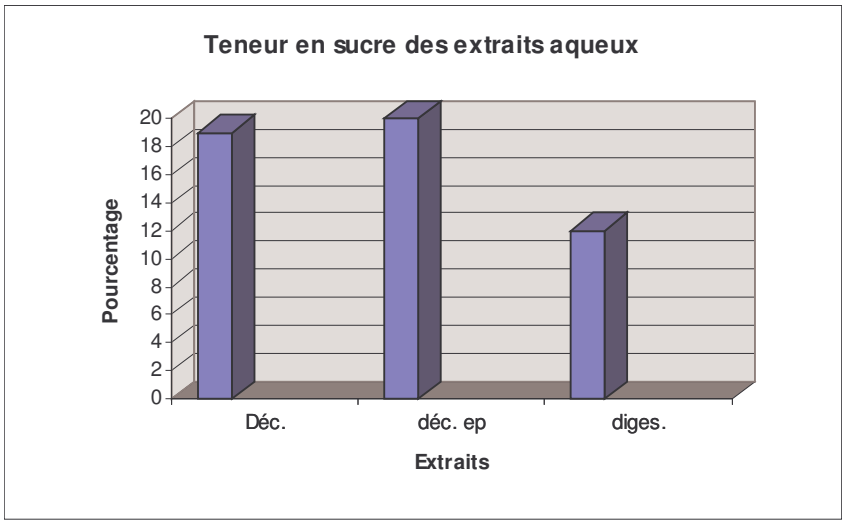



**Figure N° 9:** Teneurs en sucre des extraits aqueux des rameaux feuillés de A. c.

Le décocté épuisé est le plus riche en sucre avec 20 % suivit du décocté total qui a 19 %, la digestion est la plus pauvre avec seulement 12 % de sucre.

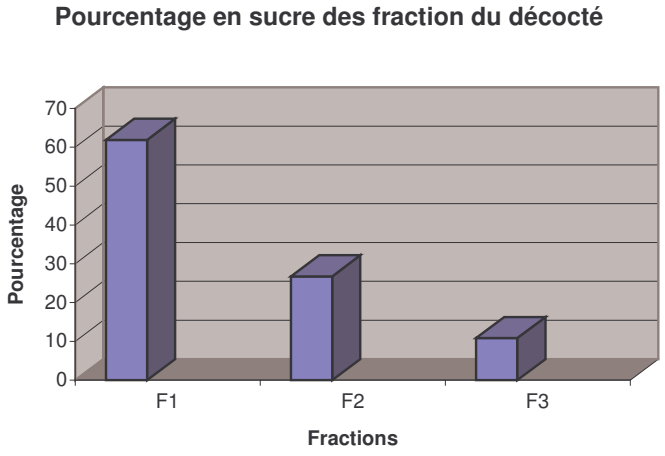



**Figure N° 10:** Teneur en sucre des fractions du décocté

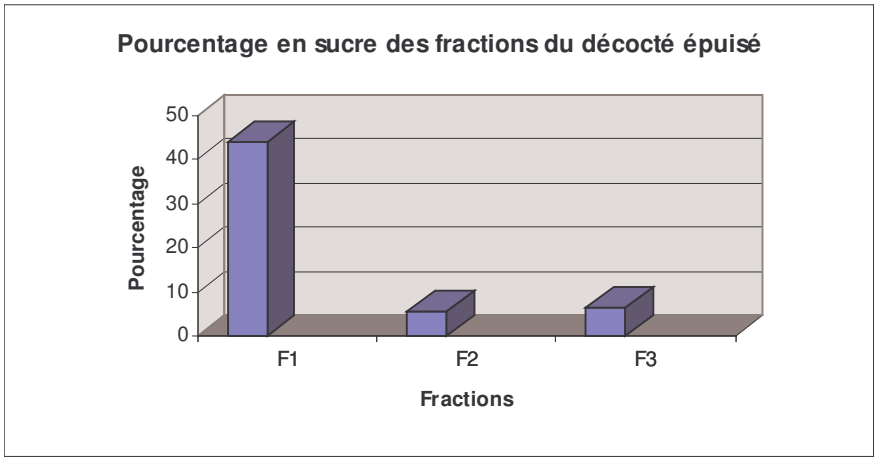
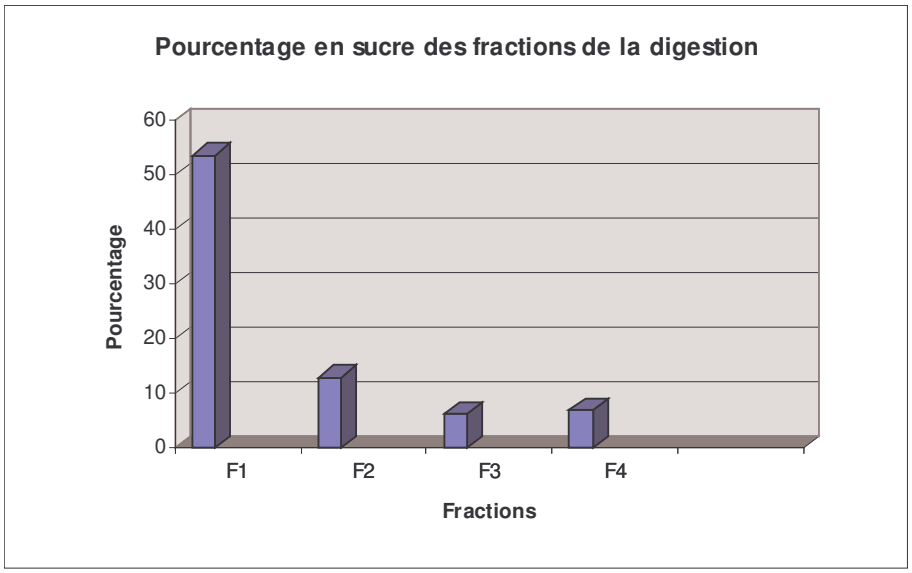



**Figure N° 11:** Teneur en sucre des fractions du décocté épuisé




# Figure N° 12: **Teneur en sucre des fractions de la digestion**

Les premières fractions sont riches en sucres que les dernières.

La première fraction du décocté est la plus riche de tous les extraits et fractions que nous avons analyser avec près de 62 % de sucres.

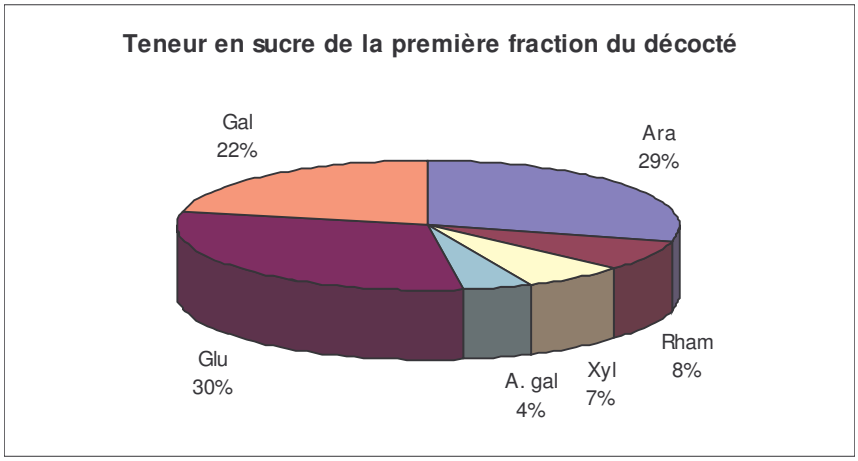



**Figure N°13:** Composition en monosaccharides de la première fraction du décocté

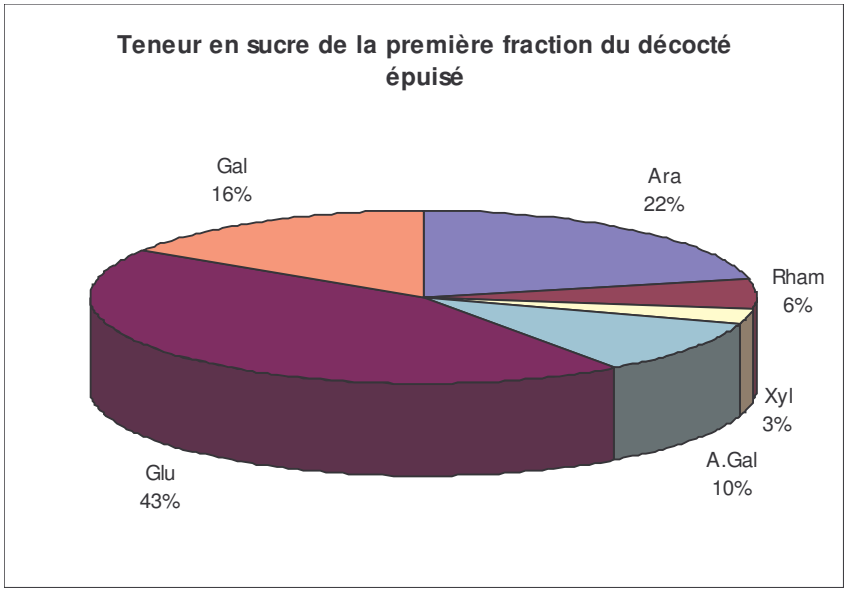



**Figure N° 14:** Composition en monosaccharides de la première fraction du décocté épuisé

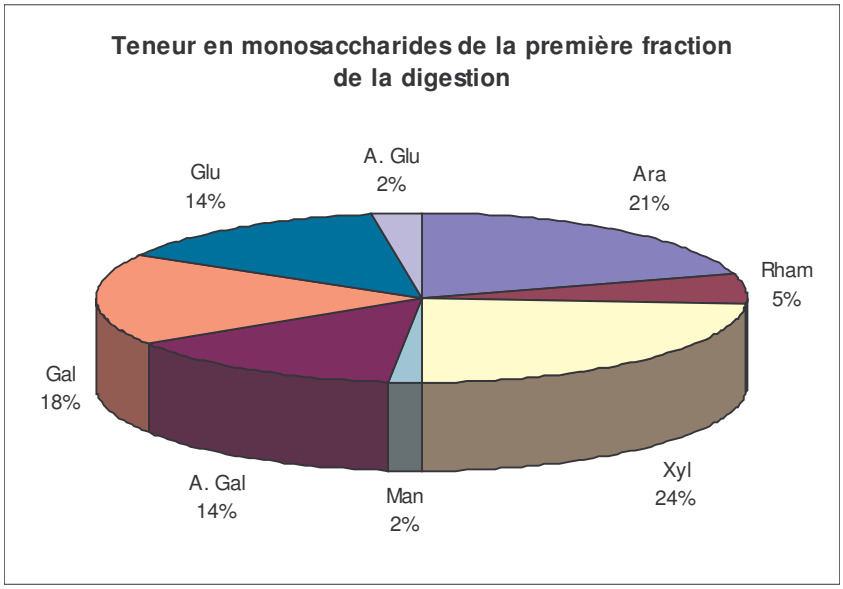



**Figure N° 15:** Composition en sucre de la première fraction de la digestion

Nous remarquons que dans les premières fractions issues des deux décoctions le glucose est le plus abondant des monosaccharides identifiés, pour celle de la digestion l'arabinose est le plus abondant, cette fraction est la seule à contenir de l'acide glucuronique et le mannose.

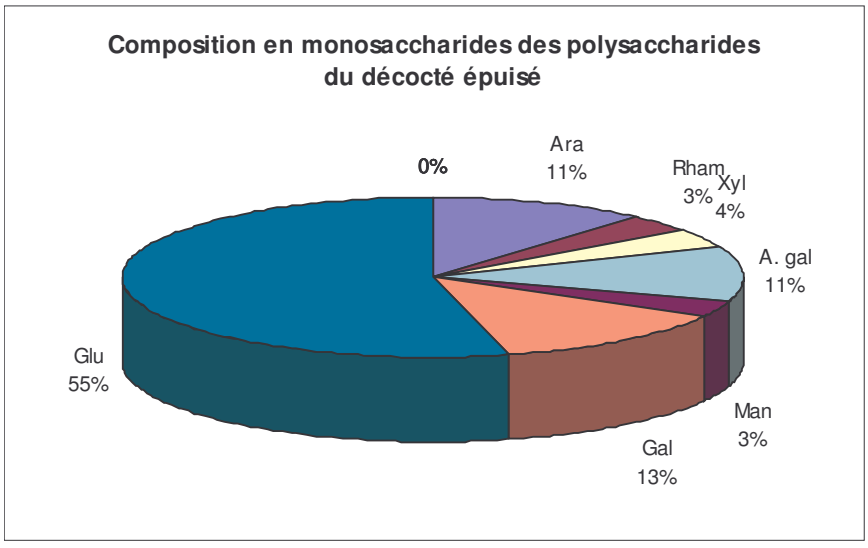



**Figure N°16:** Composition en sucre du décocté épuisé

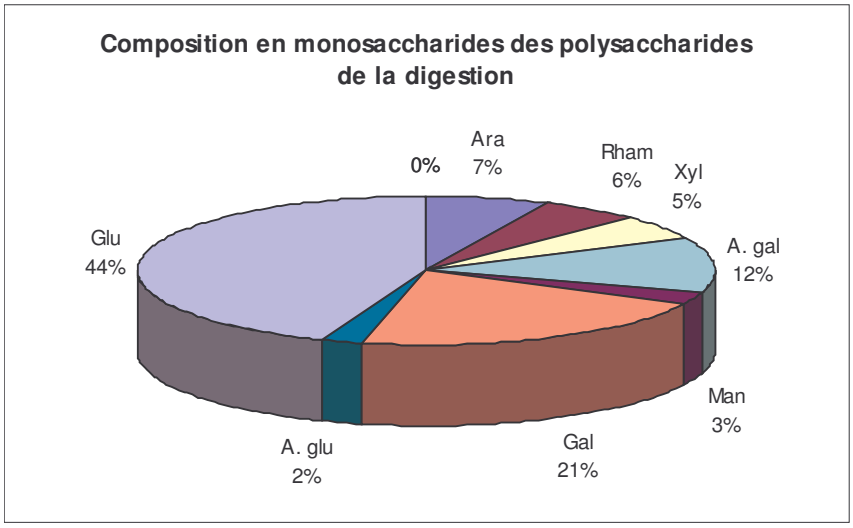



**Figure N° 17:** Composition en sucre de la digestion

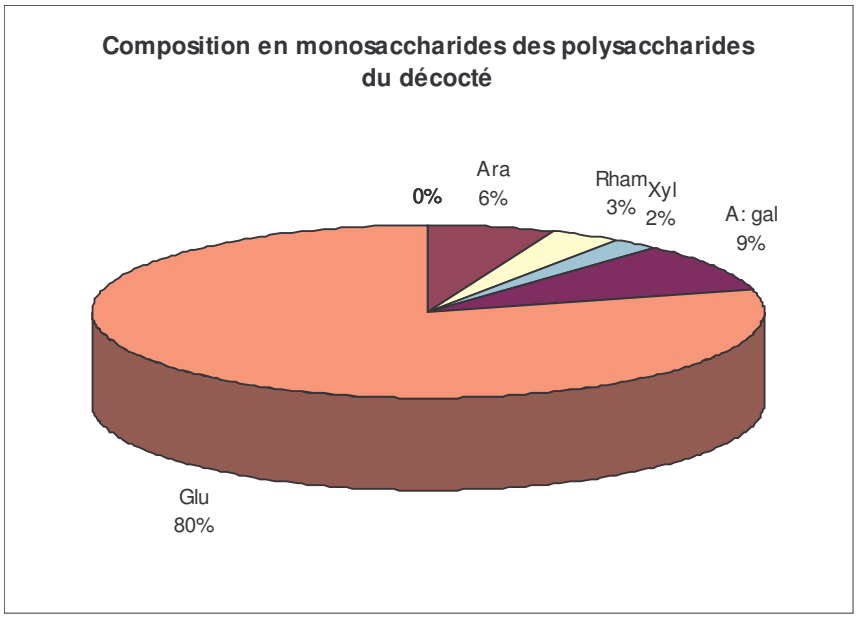



**Figure N° 18:** Composition en sucre du décocté total

Les extraits aqueux bruts sont majoritairement constitués de glucose, il représente à lui seul 80% des monosaccharides contenus dans le décocté, 55% de ceux du décocté épuisé et 44% des sucres de la digestion. Comme dans sa première fraction la digestion est la seule à contenir de l'acide glucuronique. Le décocté présente la plus faible diversité avec 5 monosaccharides.

## 1. 5. HYDROLYSE ACIDE

La détermination des sucres contenus dans les différentes fractions a abouti au conclusions suivantes :

**Tableau N° 10**: Comparaisons des Rf des fractions et ceux des sucres témoins.

| COMPOSÉS | Rf |
|---|---|
| Xylose | 0,725 |
| Fucose | 0,7125 |
| Acide glucuronique | 0,15 |
| Arabinose | 0,6875 |
| Rhamnose | 0,8375 |
| Glucose | 0,6875 |
| Galactose | 0,65 |
| Mannose | 0,7 |
| Acide galacturonique | 0,25 |
| $F_1$ digestion | 0,25 ; 0,65 ; 0,68 ; 0,7 |
| $F_2$ digestion | 0,65 |

Cette méthode de détermination est moins précise que la chromatographie en phase gazeuse, elle n´ a pas permis l´identification de tous les monosaccharides contenus dans les extraits.

# 2 - TESTS PHARMACOLOGIQUES

## 2 - 1 - ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE

**Tableau N° 11**: Rf des composés ayant une activité antioxydante .

| Nature des Extraits | Rf des composés actifs | Systèmes de solvants |
|---|---|---|
| Ethanolique | 0 - 0,22 - 0,4 - 0,85 - 0,95 | $CHCl_3$ – $CH_3OH$ – $H_2O$ (65-35-5) |
| Ethanolique épuisé | 0 - 0,22 - 0,71 - 0,79 - 0,94 | $CHCl_3$ – $CH_3OH$ – $H_2O$ (65-35-5) |
| Méthanolique | 0 - 0,09 - 0,2 - 0,94 | $CHCl_3$ – $CH_3OH$ – $H_2O$ (65-35-5) |
| Digesté | 0 - 0,11 - 0,39 - | $CHCl_3$ – $CH_3OH$ – $H_2O$ (65-35-5) |
| Macéré | 0 - 0,07 - 0,15 - 0,94 | $CHCl_3$ – $CH_3OH$ – $H_2O$ (65-35-5) |
| Décocté | 0 - 0,09 - 0,43- 0,35 - 0,39 | $CHCl_3$ – $CH_3OH$ – $H_2O$ (65-35-5 ) |
| Décocté épuisé | 0 - 0,15 - 0,24 | $CHCl_3$ – $CH_3OH$ – $H_2O$ (65-35-5) |
| Ether de pétrole | 0 - 0,29 - 0,46 - 0,67 - 0,85 - 0,87 | Ligroïn – Acétate d'éthyle (2 –1) |
| Dichlorométhane | 0 - 0,16 - 0,047 - 0,95 | Ligroïn – Acétate d'éthyle (2 –1) |

Tous les extraits que nous avons réalisés possèdent des composés à activité antioxydante, ces composés n´ont pas été identifiés mais leurs Rf ont été déterminés.
Ces substances sont surtout solubles dans l'éther de pétrole qui présente 6 taches de composés à activité antioxydante. Les extraits organiques en sont plus riches que les extraits aqueux, ceci se traduit par un nombre de taches plus élevé sur le chromatogramme.

(Espace image réservé)

**Figure N° 17:** Plaque révélée au DPPH après migration dans le système chloroforme – méthanol – eau

(Espace image réservé)

**Figure N° 18:** Plaque révélée au DPPH après migration dans le système Ligroïne acétate d'éthyle

L' éther de pétrole présente une substance nettement active à Rf = 0,87

## 2 - 2 - ACTIVITE ANTIPLASMODIALE

**Tableau N° 12**: Résultats du test sur *Plasmodium falciparum* des différents extraits .

| Nature de l´extrait | Valeur de la $CI_{50}$ ( µg / ml ) |
|---|---|
| Extrait aqueux (décocté ) | >5 |
| Extrait aqueux (macéré ) | >5 |
| **Extrait éthanolique** | **4,19** |
| Extrait méthanolique | >5 |
| Extrait avec le dichlorométhane | >5 |
| Extrait avec l'éther de pétrole | >5 |
| Extrait éthanolique épuisé | >5 |
| **Chloroquine** | **0,053** |

L´extrait éthanolique a donné une $CI_{50}$ = 4,19 µg / ml face au standard qui a une $CI_{50}$ = 0,053 µg / ml.

Ce résultat montre une activité réelle de *Alchornea cordifolia* sur la souche K1 de *Plasmodium falciparum* .

Tous les autres extraits ont une concentration inhibitrice supérieure à 5 µg / ml qui était la concentration maximale utilisée pour le test.

# COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

Dans la littérature *Alchornea cordifolia* est cité comme une plante largement utilisée contre le paludisme, elle a été citée parmi les 5 plantes les plus utilisées dans ce domaine lors d´une enquête ethnobotanique en Côte d´Ivoire ( Mustofa, 2000).

L´objectif principal de notre travail était de d'étudier la phytochimie et l´activité antipaludique de l´espèce malienne de *Alchornea cordifolia*. Pour ce faire, nous avons d´abord fait un rappel sur les deux dérivés les plus célèbres des plantes médicinales en matière de traitement du paludisme à savoir la quinine, l´artémisinine et leurs molécules de synthèse; nous avons fait un rappel aussi sur les plantes médicinales utilisées contre le paludisme au Mali tout en insistant sur celles qui ont une activité confirmée comme *Cochlospermum tinctorium, Khaya senegalensis, Nauclea latifolia, Mitragyna inermis* et une association de plantes à activité antipaludique, le malarial.

Après ces rappels nous avons développé la phytochimie de *Alchornea cordifolia* et réalisé des tests pharmacologiques.
Nous avons trouvé un pourcentage d´eau égale à 6 % en moyenne dans la poudre, ceci montre que l´échantillon sur lequel nous avons travaillé se prêtait à une bonne conservation, 6 % de la poudre sont des substances résiduelles que l´on peut obtenir après une incinération.

Plusieurs de nos résultats trouvent leur confirmation dans la littérature à savoir dans la phythochimie nous avons trouvé une forte présence de tanins dans les rameaux feuillés, ce résultat est semblable à celui de Bennet qui mentionne ces molécules à un taux de 10 % dans les feuilles. La présence de tanins confèrent à la plante des propriétés astringente, antiseptique, antioxydante et antidiarrhéique, les tanins provoquent une sorte de tonnage sur la peau et une action vasoconstrictrice sur les petits vaisseaux sanguins ( Moyse,1965 ).

Les alcaloïdes sont présents à un taux égal à 0,1 % dans les rameaux feuillés, ceci est confirmé par les travaux de Paris (1958) qui a trouvé un taux de 0,2 % dans les écorces de tige. L'écart pourrait s´expliquer par la différence de l´organe étudier. Ces substances

ont un pouvoir antimicrobien et antiparasitaire mais à des doses élevées, rappelons que se sont les alcaloïdes qui sont responsables de l'activité antipaludique des dérivés du Quinquina ( quinine et dérivés).

Les Hétérosides cardiotoniques font partir des substances les plus abondantes identifiées dans la plante, ils lui confèrent une propriété tonifiante du cœur.

La présence de composés terpéniques dans la phytochimie, est confirmée par la chromatographie sur couche mince qui a montré des taches violettes à Rf = 0,81 dans le décocté, ces caractéristiques sont celles des stérols et triterpènes. Leur présence confère une propriété antipyrétique à la plante comme cela a été démontré par Gupta en 1980.

La fièvre étant l'un des signes cliniques du paludisme, les tradipraticiens évaluent l'amélioration de la maladie par sa disparition; ceci pourrait expliquer l'utilisation traditionnelle de la plante dans le traitement du paludisme. Les travaux de Gupta confirment non seulement cette utilisation mais aussi l'activité de *Alchornea cordifolia* sur les symptômes du paludisme en plus de son activité sur le germe.

La richesse en oses dans le screening phytochimique est confirmée par la chromatographie en phase gazeuse qui a montré une diversité des extraits aqueux en sucre, ces oses ont un pouvoir régulateur du transit intestinal ( Moyse, 1965 ). Nous avons identifié plusieurs monosaccharides dans les extraits aqueux: le galactose, le glucose, le mannose, le xylose, le rhamnose, l´arabinose et les acides galacturonique et glucuronique après chromatographie sur colonne biogel P6 et chromatographie en phase gazeuse.

Le décocté qui est la forme principale d´utilisation traditionnelle est riche en sucre à 19 % dont 80 % de glucose, même si ce extrait a donné une concentration inhibitrice $CI_{50}$ > 5 µg / ml sur *Plasmodium falciparum* l'apport en glucose pourrait être utilisé dans le traitement du paludisme.

Nous avons remarqué que toutes nos premières fractions sont plus riches en sucre que les dernières ceci est en accord avec le principe de la méthode chromatographique sur colonne utilisée qui est basée sur la masse moléculaire; les substances les plus lourdes sont les premières à être recueillies donc elles constituent les premières fractions. Dans notre cas ces substances sont des Polysaccharides.

Traditionnellement *Alchornea cordifolia* est utilisé dans le traitement des plaies, ceci pourrait s'expliquer par la composition en monosaccharides de ses polysaccharides. Nous avons trouvé 29% d'arabinose, 8% de rhamnose, 22% de galactose dans la première fraction du décocté et 32% d'acide galacturonique dans la première fraction de la digestion, ces sucres sont les principaux monosaccharides des galactanes, rhamnogalactanes et rhamnogalacturonanes connus pour leur activité cicatrisante des plaies.

Tous nos extraits ont montré une activité antioxydante selon le test au DPPH, les extraits organiques ont montré un nombre plus élevé de substances actives, l'extrait éther de pétrole a donné des taches franchement positives, ces composés sont donc apolaires.
Ces substances actives au DPPH pourraient être les tanins car ils sont connus pour leur activité antioxydantes. Les études sur ces composés doivent néanmoins se poursuivre. Nous n'avons pas pu faire de liaison entre l'activité antioxydante et l'activité antipaludique, cependant l'extrait éthanolique total qui est le plus actif sur *Plasmodium* a montré 5 taches de substances antioxydantes. Ces tâches ont des Rf différents de ceux des taches du décocté qui ne s'est pas montré actif à la concentration maximale utilisée pour notre test antiplasmodiale.

Les résultats de la Chromatographie en phase gazeuse et de la réduction du DPPH nous sembles nouveaux puisque dans la littérature nous n´avons trouvé aucune mention de ces résultats.

Nos résultats du test sur *Plasmodium falciparum* sont conformes à ceux de Mustofa qui démontrait que l´extrait éthanolique des feuilles de *Alchornea cordifolia* espèce Ivoirienne avait une $CI_{50}$ = 4,56 µg / ml sur l´espèce Fc B1 de Colombie (chloroquino-résistante ) de *P. falciparum*. La différence qui est l´une des motivations de notre recherche est que cette espèce ivoirienne est un arbre de 10 à 15 m tandis que celle malienne est un arbuste de 4 à 5 m de haut. Nous pouvons de ce fait affirmer que le port de cette plante n´a pas d´influence sur son activité antipaludique. Le même auteur trouvait une $CI_{50}$ = 2,47 µg / ml du même extrait sur la souche Nigerian (sensible à la chloroquine ) de *P. falciparum* .

Ces études permettent de souligner une éventuelle solubilité de la substance active ( non encore identifié ) dans l´éthanol.

Le décocté qui est la forme principale d´utilisation traditionnelle ne s´est pas montré actif à la dose que nous avons testé (5 µg / ml); néanmoins il a montré une diversité et une grande richesse en sucre, il a une $CI_{50} > 5$ µg / ml, rappellons qu'il en est de même pour le malarial largement utilisé dans le traitement du paludisme, qui a une $CI_{50}$ = 600µg / ml, le *Spilanthes olerecae* qui est la plante la plus active du malarial a une $CI_{50}$ = 180 µg / ml.

D'autres plantes qui sont largement utilisées ont une concentration d'inhibition de 50% largement supérieur aussi à 5 µg / ml, comme *Mitragyna inermis* qui a une $CI_{50}$ = 250 µg / ml pour les extraits aqueux des préparations traditionnelles.

# CONCLUSION

Actuellement la lutte antipaludique représente l'un des défis de la santé publique; l'expérience a montré que les campagnes ne permettaient pas d'éliminer ou de maîtriser le paludisme (OMS 1991 ).

Dans le cas du paludisme chloroquino-résistant, il est à souligner que malgré les succès certains( remportés) dans la chimiothérapie, le problème demeure d'actualité; en effet l'espoir fondé sur certains nouveaux antipaludéens s'estompe de plus en plus à cause des nombreux échecs enregistrés dans certaines zones ( en Thaïlande et au Cambodge le taux de résistance à la méfloquine atteint 50 % ) ( OMS 1993 ).

Le développement de la recherche sur les plantes médicinales reste un espoir pour faire face au problème d'ordre thérapeutique que pose le paludisme.

Au cours de cette étude nous avons apporté notre contribution pour une meilleure connaissance sur une des plantes à activité antipaludique : *Alchornea cordifolia* .
Nous avons déterminé l'activité antipaludique des extraits éthanolique, dichlorométhane, éther de pétrole, méthanolique, aqueux à froid et à chaud (50 et 100° ); l'extrait éthanolique a été le plus actif avec une $CI_{50}$ = 4,19 µg / ml.
Le screening phytochimique a conclu en une richesse de rameaux feuillés de *Alchornea cordifolia* en substances ayant de grandes valeurs thérapeutiques, l´efficacité de ces substances n´est obtenue que lorsque leur taux atteint une certaine proportion dans une préparation à usage traditionnelle, ceci passe par une bonne méthode de cueillette et de conservation de ces organes.

Il serait souhaitable de poursuivre l'étude de cette plante surtout dans le domaine toxicologique afin de mettre à la disposition de nos populations une plante active avec des posologies précises.

Le développement des médicaments traditionnels améliorés serait un moyen moins cher et efficace pour faire face au problème du paludisme et améliorer l'état de santé de la population.

Quant au rôle de l´anophèle vecteur, il peut être limité par les moyens classiques de lutte à savoir l'utilisation des moustiquaires, des insecticides et la destruction des gîtes larvaires.

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES


**- Abbiw D. K., 1990** Useful plants of Ghana, Royal botanique garden, Kew edition, 126-247.

**- Adjanohoun E. J., Ake Assi, L., Floret J. J., Koumaré M., Ahyi A. M. R., Raynal J., 1985** Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques du Mali ACCT, 4 ème édition

**- Agbe, S. A. O., Oguntimein, B. 1987** Anti-Trypanocidal activity of *Alchornea cordifolia*, *Phytotherapy research* **1**, 151-153

**- Ajali U. 2000** Antibacterial activity of *alchornea cordifolia* stem bark, ***F****itoterapia* **71** 436-438.

**- Akubé P. L., Mittal G. C. 1982,** Clinical evaluation of traditional herbal practice in Nigeria *J. Etnopharmacol.* **6** , 355-359.

**- Anton R., Duquenois P. , 1968** L´emploi des *Cassia* dans les pays tropicaux et subtropicaux examiné d´après quelques uns des constituants chimiques de ces plantes. *Plante Med. phytoter.* **2** 255-268.

**- Asuzu I. U., Njoku C. K. 1996** The anthelmintic effect of *Alstonia boonei* bark and *Nauclea latifolia* leaves aqueous extracts on *Trichostrongylus* infective larvae. *Fitoterapia* LXV II **3** 220-222 .

**- Barry M. S., Oulalé K., Camara N., Vuetinck A. J., Vanden Bergue D., Baldé A. M., 2002** Evaluation de l´activité antifongique de plantes à usage populaire en Guinée , Poster lors du syposium international sur la chimie et la pharmacologie des plantes utilisées en médecine traditionelle en Afrique, 6-8 Mars Bamako Mali .

**- Bennet H. 1950** *Alchornea cordifolia* leaves and bark from Nigeria. *Colonial plant annual Products*, **1**, 132-134.

**- Benoit V., Valentin A., Cournac V., Pelissier Y., Mallie M., Bastide, J. 1998** *In vitro* antiplasmodial activity of stem and root extract of *Nauclea latifolia* Sm Rubiaceae , *Journal of ethnopharmacol.* **61,** 173-178.

**- Benoit V., Valentin A., Marion C., Mallie M., Bastide J. 1995** Antimalarial activity *in vitro* of *Cochlospermum tinctorium* tubercule extracts. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. hyg*., **89**, 217-218.

**- Bishay D. W., Che C. T., Conzalez A., Pezzuto J. M., Douglas A. K., Farnswort N. R. 1988** Further chemical constituants of *Mitragyna inermis* stem bark *Fitoterapia*, LIX, **5**, 397-398

**- Bougnous M. E., Ancelle T. 1993 ,** Place de l´artémether parmi les dérivés du Quinghaosu, *Cahier santé*, 3, **4**, 309.

**- Boulos M., Santini M. O., Segurado A. A. C., Carvalho N. B., Amato N. V. 1994** Rôle de l´artémisinine et de ses dérivés dans le traitement du paludisme. *Rapport O M S*,**1067**, 35-45.

**- Bryskier A., Labro M. T. 1988** Paludisme et médicament, Arnette , 10.

**- Bouvier P., Doumbo O., Breslow N., Robert C. F., Mauris A., Piquect M., Kouriba B., Dembélé H., Delly V., Rougemont A. 1997** Seasonality malaria and impact of prophylaxis in west african village I , effect of anemia in pregnacy. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **56** 379-383.

**- Browing P. M., Bisby R. M. 1989** Quinghaosu does not affect the major thermotropic phase transition in model membrane of dipalmitoyl phosphatidylcholine , *Molecular and Biochemical Parasitology*, 32 , 57-60 .

**- Crete P., 1965** Precis de botanique : Systématique des Angiospermes , tome **2**., révision de la 2ème édition.

**- Danis, M., Brucker, G., Diallo, A., M´pele, P., Traore, B., Gentilini, M. 1968,** Les nouveaux antipaludiques. *Med. Afr. Noire*, **33**, 811-824

**- Diallo B., Vanhaelen N., 1988**, Large scale purification of apocarotenoids from *Cochlospermum tinctorium* by countercurrent chromatography , *Journal of Liquid chromatograph* 11, **1**, 227-231.

**- Diallo B., Vanhaelen F. R., Vanhaelen M. 1991** Triacyl benzenes and long chain volatile ketones from *Cochlospermum tinctorium* rhizomes , *Phytochimestry* vol. 30, **12** , 4153-4156.

**- Diallo B. , Vanhaelen F. R. , Vanhaelen M. , Fiegel C. , Joyeux M. , Roland A. , Fleurentin J. 1992** Further studies on the hepatoprotective effect of *Cochlospermum tinctorium* rhizomes. *Journal of Etnopharmacology* **36**, 137-142

**- Doumbia S. L. 1994,** Etudes des plantes réputées antipaludiques au Mali , Thèse de pharmacie, Faculté de Médecine de pharmacie et D´odontostomatologie

**- Doumbo O 1992,** Efficacité et tolérance de la triple association méfloquine + pyrimethamine + sulfadoxine (Fansinef ) dans le traitement des accès palustres graves à

*Plasmodium falciparum* au Mali (à propos de 100 cas ). *Med. Afr. Noire* 39 , **6** , 459-462,

**- Duquenois P., Anton R. 1968** Contribution à l´étude chimique des feuilles de *Cassia sieberiana* D. C. *Planta Medica* **16** 184-190.

**- Ebi G. C.** 2000 Antimicrobial activities of *Alchornea cordifolia*, *Fitoterapia* **72**, 69-72.

**- Feirera M. A., Nogueira P. L.,Correia A. A. 1963** Sobre as raizes de *Alchornea cordifoli*, Gracia de orta, Vol. 11, **2**, 265-274.

**- Fouraste I., Bamba D., Dempah J., Pelissier Y., Ake A. L. 1986** Plantes antifongiques utilisées en medecine traditionelle africaine. *Revue médicale de Côte d´Ivoire*, 75.

**- Gentilini M., Duflo B. 1986** Paludisme Med. trop. Med. Sciences, Flammarion 81-108.

**- Gaind K. N., Budhira R. D., Kaul R. 1966** Antibiotic activity of *Alchornea cordifolia. Fitoterapia* **72** 69-72.

**- Gbeassor M., Kossu Y., Ameabo K., Souza de C., Koumaglo K.,and Denke A. 1989** Antimalarial effect of eight african medicinal plants. *Journal of Etnopharmacology*, **25**, 115-118.

**- Gupta M. B. , Nath R. 1980** Anti inflammatory and antipyretic activities of β sitosterol, *Planta medica* **39**, 157-163 .

**- Grachot B. , Ringwald P. , 1998 ,** Paludisme pernicieux , *La Revue du praticien*, **48** , 273-278.

**- Hamet R., Millat l. 1933** Les *Mitragyna* et leurs alcaloïdes travaux des laboratoires de matières médicales et de galénique de Paris, T. XXIV 7ème Partie.

**- Hien T.T., Arnold K. 1992** Artemisinin and its derivatives in the treatment of *falciparum* malaria in Viet - Nam, Abstract of 13 th international congress for tropical medicine and malaria, Thaïland.

**- Hostettman K. 1986** Tout savoir sur le pouvoir des plantes sources de médicaments. FAVRE 145-149

**- Hotellier F., Delaveau P, Pousset J. L. 1979** Alcaloïdes et glucoalcaloïdes des feuilles de *Nauclea latifoloia. Planta med.* **35** , 242-246.

**- Hotellier F., Delaveau P. 1975** Naucléfine et Nauclétine deux nouveaux alcaloïdes de type indoloquinolizine isolés de *Nauclea latifoloia* , *Phytochemistry* **14** , 1407 .

**- Khalid S. A., Farouk A., Geary T.G., Jensen J. B. 1986** Potential antimalarial candidates from african plants. *J. Ethnopharmacology* **15** , 315-338

**- Kerharo J. , Adams 1974 ,** La Pharmacopée Sénégalaise Traditionnelle : Plantes medicinales et toxiques. Edition Vigot , 402-404.

**– Kerharo J., Bouquet A. 1950** Plantes médicinales et toxiques de la Côte d´Ivoire, Haute Volta, Edition Vigot, 67

**- Krisnaswamy N. R., Prasanna S., Seshadry T. R., Vedantham T. N. C., 1975** β Amyrin ester and sitosterol glucoside from *Spilantes acmella, Phytochemestry,* **14,** 1666-1667.

**- Le Grand, A. 1989** Les phytothérapies anti infectueuses de la forêt savane seneal III, un résumé des substances phytochimiques et l´activité antimicrobienne de 43 espèces, *J. ethnopharmacology* **52** , 315-338

**- Mesbal M. K., Abdel El Hafiz M. A. , El Shanawany M. A. 1984** Pharmacognosy study of *Khaya senegalensis* in Egypt . Botanical and chemical study of the leaf, *Bull. Pharm. Sci.* **7**, 207-223 .

**- Meshnick R. M. 1991** Artemisinine (Quinghaosu ) the role of intracellular hemin in its mechanism of antimalarial action , *Molecular and Biochemical Parasitology* , **49**, 180-190

**- Millat L. 1946** La Mitrinermine, base végétale hypotensive est - elle identique à la ryncophylline ? *Annales pharmaceutiques francaises*, 4 , **1** , 23-29

**- Mouchet J. , Carnevale P. 1991**, Répartition et classification écologique du paludisme, *Med. Trop. Ellipsse* / Aupelf.

**- Moyse H., Paris P. P. 1965** Pharmacognosie générale , collection de précis de matière médicale , Edition Masson, Tome 1 , 412 PP

**- Mustofa Alexis, V., Francoise, B. , Yves,P.,Koné-Bamba, D., Mallié, M., 2000,** Antiplasmodial activity of plant extract used in west african traditional medicine. *J. of Etno. Pharm.* **73,**145-151.

**- Newinger H. D. 1996** African ethnobotany poisons and drugs , chimestry pharmacology toxicology , edition chapman , 608 - 612 .

**- Ogundipe O. O., Moody J. O., Hougton P. 2001** Occurrence of flavonol sulfates in *Alchornea laxiflora Pharmaceutical Biology,* Vol. 2, **6**, 421-423

**- OMS 1984** La chimiothérapie du paludisme, 39-74.

**- OMS 1991** Le paludisme, santé du monde Sept. Oct. 6

**- OMS 1993** Vaccination exigées et conseils d´hygiène, voyages internationaux.

**- OMS 2000** The use of antimalarial drugs report of an informal consultation, H O Geneva 13-17 novembre 2000.

**- Paris R., Mignon H. 1939** Sur quelques Méliaceae réputés fébrifuges. *Bull. Soc. Pharmacol.* **46** , 104-108 .

**- Perera, P., Kumbi, E., Sandberg, F., 1991,** Pharmacological screening some plants of Cameroun . *Fitoterapia* LXII 139-143 .

**- Perrot E. 1939** Drogues médicinales et toxiques de l´AOF . Travaux des laboratoires de Matières Médicales et de galéniques de Paris XXX 1ère partie .

**- Plat M., Ythier P., Denes I.** 1995 Résumé dossier Arsumax Comprimés à 50 mg Sanofi Wintrop AMO, 46p.

**- Pruja S. 1987** Contribution à l´étude phytochimique de *Alchornea cordifolia* mémoire de DEA INP Toulouse.

**- Rhone P., Robert D. 1993** Etude comparative de l´efficacité et de la tolérance de l´artémether en im et de la quinine en iv dans le traitement du paludisme sévère à *Plasmodium falciparum* de l´adulte et de l´enfant. Rapport, 38p.

**- Torok M. E., White N. J., Krishna S. 1992** Intra-rectal artémether is efficacious in *Plasmodium berghei* infection in rats. Abstract of 13 th international congress for tropical medecine and malaria , Thaïland 1992 .

**– Touré H., Balansard, G., Pauli, A. M., Scoh, A. M. 1996** Pharmacological investigation of alkaloïds from leaves of *Mitragyna inermis* ( Rubiaceae ). *Journal of Ethnopharmacology* **54**, 59-62 .

**- Touze J. E. , Henos, P. , Foucarde, L. 1998** Accès palustre simple, *La Revue du praticien* **48** , 269-272 .

**- Traoré, F. 1999** Evaluation de l´activité antimalarique de *Glinus oppositofolius , Nauclea latifolia , Mitragyna inermis* , trois plantes utilisées en Médecine traditionnelle au Mali . Thèse de Doctorat Université de la Méditerranée, Marseille II, pp 199 .

**- Udoh V. Francis 1995** Effects of leaf and root extracts of N*auclea latifolia* on prurinergic neurotransmission in the rat bladder, *Phytotherapy Research* **9**, 239-243.

**- VerykokidovV. E.,Becker H.1983** Flavonoïdes ans *Spilantes oleraceae* Jacq. Archiv. Der Pharmazie 316, 815-816.

# ANNEXES

## COMPOSITION DES RÉACTIFS

### 1. 1. Réactif de BALJET

Acide picrique ---------- 1 g

Ethanol 50° qsp ---------- 100ml

### 1. 2. Réactif de DRAGENDORFF

Nitrate de bismuth pulvérisé ---------- 20,80 g

Iodure de sodium anhydre ---------- 200 g

Iode---------- 38,10 g

Eau distillée ---------- 600 ml

Agiter pendant 30 mn

### 1. 3. Réactif de DPPH

1-1 diphenyl 2 picril hydrazyle 2 mg par ml de méthanol

### 1. 4. Réactif de FEHLING

Solution A: CuSO4 ---------- 35 g

Eau distillée ---------- 500 ml

$H_2SO_4$---------- 5 ml

Laisser refroidir et completer à un litre avec l´eau distillée.

Solution B: Sel de Seignette ---------- 150 g

Eau distillée ---------- 500 ml

Refroidir et ajouter 300 ml de lessive non carbonaté et completer à un litre avec l´ eau distillée.

NB: mélanger les deux solutions à volume égale au moment de l´emploi.

### 1. 5. Réactif de GODIN

Solution A: Vanilline---------- 1 g

Ethanol à 95 %---------- 1000 ml

Solution B: Acide perchlorique---------- 3 ml

Eau distillée---------- 100 ml

Mélanger les deux solutions au moment de l´emploi ensuite pulvériser les plaques avec une solution de $H_2SO_4$ à 10%.

**1. 6. Réactif de GUIGNARD (préparation du papier picrosodé )**

Acide picrique ---------- 1 g

Carbonate de Sodium ---------- 10 g

Eau distillée ----------100ml

**1. 7. Réactif de KEEDE**

Acide dinitro 3 5 benzoïque ---------- 1 g

Ethanol à 95° qsp---------- 100ml

**1 - 8 - Réactif de RAYMOND MARTHOUD**

1-3 M dinitrobenzène ---------- 1 g

Ethanol à 96° qsp---------- 100ml

**1. 9. Révélateur de Résorcine**

Résorcine ---------- 100mg

Ethanol ---------- 50 ml

Acide phosphorique---------- 50 ml

**1. 10. Réactif de VALSER-MAYER**

Iodure de potassium ---------- 25 g

Chlorure mercurique ---------- 6,77 g

Eau distillée ---------- 250ml

# LEXIQUE DES ABREVIATIONS

HCl : Acide chlorhydrique

$H_2SO_4$: Acide sulfurique

$NH_4OH$: Ammoniaque

$N_2$ : Azote

$NaHCO_3$: Carbonate de sodium

cm: Centimètre

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CPG: Chromatographie en Phase Gazeuse

$CHCl_3$: Chloroforme

$CI_{50}$ : Concentration inhibitrice 50 %

$CO_2$: Gaz carbonique

°*C*: Degré Celsius

DCI: Dénomination Commune Internationale

DCM: Dichlorométhane

DMT : Département de Médecine Traditionnelle

DMSO: Diméthyl sulfoxyde

DPPH: 1-1 Diphényl 2- Picril Hydrazine

$H_2O$: Eau

g: Gramme

KOH: Hydroxyde de potassium

h: Heure

INRSP: Institut National de Recherche en Santé Publique

I: Indice de mousse

im: Intramusculaire

iv: Intraveineuse

j: Jour

kg: Kilogramme

MGG: May Grunwal Giemsa

m: Mètre

µl: Microlitre

µg: Microgramme

mg: Milligramme

ml: Millilitre

mn: Minute

M: Molarité

ng: Nanogramme

nm: Nanomètre

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

$O_2$: Oxygène

pH: Potentiel hydrogène

%: Pour cent

qsp: Quantité suffisante pour

Rf: Rappor frontal

$SbCl_3$: Trichlorure d´antimoine

$FeCl_3$: Trichlorure de fer

TMS: Triméthyl silane

U: Unité

UV: Ultraviolet

V: Volume

# LOCALISATION ET RESUME DE LA THESE

# LOCALISATION

**Nom:** TOGOLA

Prénom : **Adiaratou**

Titre : **ETUDE de la PHYTOCHIMIE et de L'ACTIVITÉ ANTIPALUDIQUE de *Alchornea cordifolia* Schmach. ( EUPHORBIACEAE)**

Année universitaire : 2001-2002

**Ville de soutenance : BAMAKO**

Pays d'origine : MALI

Lieu d'étude : Département de Médecine Traditionnelle

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'OdontoStomatologie

Secteur d'intérêt : Pharmacognosie

# RESUME

Cette étude a consisté à la détermination de l'activité antipaludique d'une plante utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement du paludisme: *Alchornea cordifolia* de la famille des Euphorbiaceae. Le travail a été réalisé sur la poudre de rameaux feuillés récoltés à Kati.

Les groupes chimiques ont été déterminés par des réactions de caractérisations, une CCM a été effectuée sur les extraits obtenus, les monosaccharides des extraits aqueux ont été identifiés par la chromatographie sur colonne et la chromatographie en phase gazeuse, ce sont: le glucose, le galactose, le mannose l'arabinose, le xylose, le rhamnose, les acides galacturonoque et glucuronique. L'activité antioxydante des extraits a été déterminée par la méthode de réduction du DPPH, les extraits aqueux ont été les plus riches en substances à activité antioxydante.

L’activité antiplasmodiale a été déterminée par la méthode de dilution sur plaque, l’extrait éthanolique a été le plus actif avec une concentration inhibitrice $IC_{50}$ = 4,19µg/ml.

**Mots clés**: *Alchornea cordifolia*, paludisme, monosaccharides, antioxydants.

# SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des Maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

***D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;***

***D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;***

***De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ;***

***En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels ;***

***Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ;***

***Que je soit couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque.***